

Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie der Technischen Universität
München – Klinikum rechts der Isar
Direktor: Univ.- Prof. Dr. Dr. K.- D. Wolff

**Die Untersuchung der Wirkung autologer Wachstumsfaktoren,
gewonnen aus thrombozytenreichem Plasma, auf die Wundheilung von
Spalthautentnahmestellen am Oberschenkel
– eine klinische Studie**

Caroline Susanne Gerlach

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin
der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen
Grades eines Doktors der Zahnheilkunde genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. Ernst J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. Dr. Florian Bauer
2. Univ.-Prof. Dr. Dr. Klaus- Dietrich Wolff

Die Dissertation wurde am 28.12.2015 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 13.07.2016 angenommen.

Inhalt

Inhalt.....	III
Abkürzungsverzeichnis.....	V
Abbildungsverzeichnis.....	VII
Tabellenverzeichnis.....	IX
1 Einleitung.....	1
1.1 Die Hauttransplantation.....	1
1.1.1 Aufbau der Haut.....	1
1.1.2 Indikationen.....	2
1.1.3 Das Vollhauttransplantat.....	2
1.1.4 Das Spalthauttransplantat.....	3
1.1.5 Versorgung der Spalthautentnahmestelle.....	4
1.2 Die Wundheilung.....	5
1.3 Wundheilungsstörungen.....	7
1.4 Wachstumsfaktoren.....	9
1.4.1 Allgemein.....	9
1.4.2 Thrombozytäre Wachstumsfaktoren.....	9
1.4.3 Bisheriger Wissensstand zum therapeutischen Einsatz von WF.....	11
1.5 Ziel und Fragestellungen.....	14
2 Material und Methode.....	16
2.1 Patientenkollektiv.....	16
2.1.1 Bestimmung der Zentrifugationsparameter.....	16
2.1.2 Herstellung des thrombozytenreichen Plasmas.....	16
2.1.3 Applikation des thrombozytenreichen Plasmas.....	20
2.1.4 Bestimmung der Laborparameter.....	20
2.2 Datenerhebung.....	21
2.2.1 Klinische Beurteilung der Wundheilung.....	21
2.2.2 Morphometrische Bildanalyse.....	25

2.2.3	Statistik	26
3	Ergebnisse	27
3.1	Ergebnisse der klinischen Wundheilungsanalyse.....	27
3.2	Ergebnisse der morphometrischen Bildanalyse	37
3.3	Ergebnisse der Analyse der Laborparameter	39
3.3.1	Ergebnisse der Thrombozytenfunktionsanalyse	39
3.3.2	Ergebnisse der Thrombozytenanreicherung	40
4	Diskussion.....	42
4.1	Klinische Wundheilungsanalyse.....	47
4.2	Morphometrische Bildanalyse	51
4.3	Analyse der Laborparameter.....	52
4.3.1	Bestimmung der Thrombozytenfunktion	52
4.3.2	Herstellung und Anreicherung des PRP	54
4.3.3	Applikation des PRP.....	56
5	Zusammenfassung.....	58
6	Literatur	61
7	Anhang.....	69
7.1	Patientenaufklärungsbogen	69
7.2	Exemplarische Dokumentation der Spalthautentnahmestellen in der Kontrollgruppe.....	72
7.3	Exemplarische Dokumentation der Spalthautentnahmestelle mit PRP.....	75
8	Lebenslauf.....	78

Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosindiphosphat
AMD	Antimicrobial-impregnated dressing
AS	Aminosäure
AP	alkalische Phosphatase
AUC	area under the curve
β-FGF	basischer Fibroblasten-Wachstumsfaktor (basic fibroblast growth factor)
β-TG	β-Thromboglobulin
BMP	Bone Morphogenetic Protein
bzw.	beziehungsweise
bzgl.	bezüglich
CPDA	Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGF	epidermaler Wachstumsfaktor (epidermal growth factor)
ELISA	Enzyme-linked-Immunosorbent-assay
g	Gravitationskraft
GOX	Glucoseoxidase
HRP	Meerrettichperoxidase
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IL-1	Interleukin-1
KD	Kilodalton
KG	Kontrollgruppe
MG	Molekulargewicht
PDGF	Wachstumsfaktor aus Blutplättchen (platelet derived growth factor)
PDWHF	Wundheilungs-Formula aus Blutplättchen (platelet derived wound healing formula)
PF-4	platelet factor-4
PRP	thrombozytenreiches Plasma (platelet rich plasma)
RZB	relative Zentrifugalbeschleunigung
SH	Spalthaut
sog.	sogenannt
TGF-β	transformierender Wachstumsfaktor-β (transforming growth factor-β)
TK	Thrombozytenkonzentrat
TRAP	Thrombin Rezeptor Activating Peptid

VEGF	vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (vascular endothelial growth factor)
VSS	Vancouver Scar Scale
WF	Wachstumsfaktor
ZMK	Zahn-, Mund-, Kieferheilkunde

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Aufbau der Haut; (http://www.physioderm.de/images/reddiXL/seiten_de/36_2.jpg)	S. 1
Abb. 2: Gerinnungskaskade; (http://www.umm.uniheidelberg.de/inst/ikc/gerinnungskaskade.html)	S. 6
Abb. 3: Materialien zur Herstellung von PRP	S. 17
Abb. 4: CPDA-Röhrchen mit Blutzellen, Buffy-Coat und Plasma nach der ersten Zentrifugation	S. 18
Abb. 5: CPDA-Röhrchen mit PRP und Plasma nach der zweiten Zentrifugation	S. 19
Abb. 6: Zweimal 1 ml des fertig hergestellten PRP mit Resterythrozyten in Insulinspritze	S. 20
Abb. 7: Dokumentationszeitpunkte der Spalthautentnahmestelle	S. 22
Abb. 8: Score für allgemeine Wundheilungskriterien	S. 22
Abb. 9: Morphometrische Bildanalyse	S. 25
Abb. 10: Boxplotdarstellung von Kriterium der „inhomogenen Wundränder“	S. 30
Abb. 11: Boxplotdarstellung von Kriterium der „Bildung von Epithelinseln“	S. 30
Abb. 12: Boxplotdarstellung von Kriterium der „am Wundrand belassene Epithelstreifen“	S. 30
Abb. 13: Boxplotdarstellung von Kriterium „hyperämischer Wundcharakter“	S. 32
Abb. 14: Boxplotdarstellung von Kriterium „Wundschorf“	S. 32
Abb. 15: Boxplotdarstellung von Kriterium „Granulationsgewebe“	S. 32
Abb.16: Boxplotdarstellung von Kriterium „Fibrinbelag“	S. 33
Abb.17: Boxplotdarstellung von Kriterium „Rötung“	S. 33
Abb.18: Boxplotdarstellung von Kriterium der „nekrotischen Wundanteile“	S. 33
Abb. 19: Boxplotdarstellung von Kriterium der „generellen Schrumpfung“	S. 34
Abb. 20: Boxplotdarstellung von Kriterium der „Keloidbildung“	S. 34
Abb. 21: Boxplotdarstellung von Kriterium der „abgeschlossenen Wundheilung“	S. 35
Abb. 22: Boxplotdarstellung: VSS	S. 35
Abb. 23: Boxplotdarstellung: VSS	S. 35
Abb. 24: Boxplotdarstellung: VSS	S. 36
Abb. 25: Boxplotdarstellung: VSS	S. 36
Abb. 26: Boxplotdarstellung: VSS	S. 36
Abb. 27: Säulendiagramm von morphometrische Bildanalyse	S. 37
Abb. 28: Boxplotdarstellung von: Wundoberfläche, die regulär mit Granulationsgewebe, Fibrinbelag und Schorf bedeckt ist (3. Tag postoperativ)	S. 37
Abb. 29: Boxplotdarstellung von: Wundoberfläche, die regulär mit Granulationsgewebe, Fibrinbelag und Schorf bedeckt ist (7. Tag postoperativ)	S. 38
Abb. 30: Boxplotdarstellung von: Wundoberfläche, die regulär mit Granulationsgewebe, Fibrinbelag und Schorf bedeckt ist (10. Tag postoperativ)	S. 38
Abb. 31: Boxplotdarstellung von: Wundoberfläche, die regulär mit Granulationsgewebe, Fibrinbelag und Schorf bedeckt ist (60. Tag postoperativ)	S. 38
Abb. 32: Korrelation Thrombozytenausgangswert – Anreicherung	S. 41

Abb. 33: Score der allgemeinen Kriterien	S. 47
Abb. 34: Patientenaufklärungsbogen Seite 1	S. 69
Abb. 35: Patientenaufklärungsbogen Seite 2	S. 70
Abb. 36: Patientenaufklärungsbogen Seite 3	S. 71
Abb. 37: Spalthautentnahmestellen ohne PRP	S. 72
Abb. 38: Spalthautentnahmestellen ohne PRP	S. 73
Abb. 39: Spalthautentnahmestellen ohne PRP	S. 74
Abb. 40: Spalthautentnahmestellen mit PRP	S. 75
Abb. 41: Spalthautentnahmestellen mit PRP	S. 76
Abb. 42: Spalthautentnahmestellen mit PRP	S. 77

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Klassifikation der Spalthauttransplantate (Andreassi, A., et al., 2005, S. 45)	S. 3
Tab. 2: Übersicht postoperative Wundheilungsstörungen (Blank, I., 1997, S.12)	S. 8
Tab. 3: Spezielle Wundkriterien zu den jeweiligen Dokumentationszeitpunkten	S. 23
Tab. 4: Modifizierter Vancouver Scar Scale zur Analyse der Narbenbildung	S. 24
Tab. 5: Score für allgemeine Kriterien/Auswertung der PRP-Gruppe	S. 27
Tab. 6: Score für allgemeine Kriterien/Auswertung der KG	S. 28
Tab. 7: Statistische Auswertung der allgemeinen Kriterien/Vergleich der Analysezeitpunkte	S. 28
Tab. 8: Statistische Auswertung der allgemeinen Kriterien/Vergleich der beiden Gruppen	S. 29
Tab. 9: Statistische Auswertung der speziellen Wundheilungskriterien am 3. Tag postoperativ	S. 29
Tab. 10: Statistische Auswertung der speziellen Wundheilungskriterien am 7. Tag postoperativ	S. 31
Tab. 11: Statistische Auswertung der speziellen Wundheilungskriterien am 10. Tag postoperativ	S. 33
Tab. 12: Statistische Auswertung der speziellen Wundheilungskriterien am 60. Tag postoperativ	S. 34
Tab. 13: Analyse der Thrombozytenfunktion [AU/min (941–1563)]	S. 39
Tab. 14: Thrombozytenausgangswert, Anreicherung und Anreicherungsfaktor	S. 40

1 Einleitung

1.1 Die Hauttransplantation

1.1.1 Aufbau der Haut

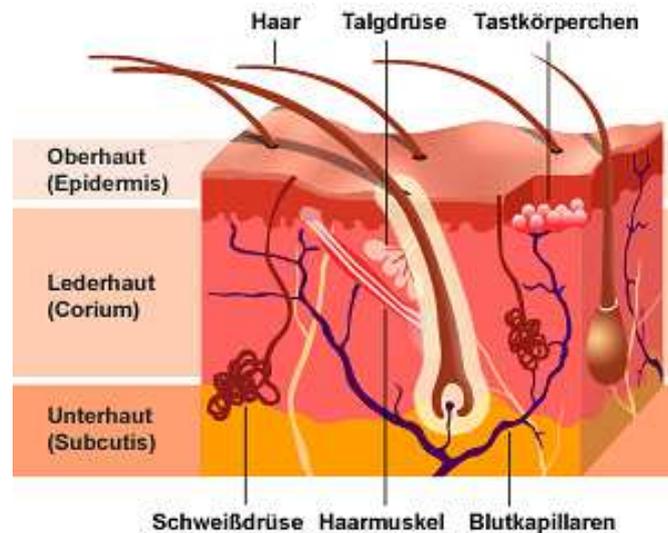


Abb. 1: Aufbau der Haut; (http://www.physioderm.de/images/reddiXL/seiten_de/36_2.jpg)

Wie in Abb. 1 zu sehen ist, setzt sich die Haut aus folgenden drei Schichten zusammen:

1. Epidermis (Oberhaut)
2. Dermis oder Corium (Lederhaut)
3. Subcutis (Unterhaut)

Die Epidermis gehört zu den Epithelgeweben. Dabei handelt es sich um ein gefäßloses, mehrschichtiges, verhornendes Plattenepithel, das 0,03–0,5 mm dick ist. Bei der Epidermis unterscheidet man die Leisten- und Felderhaut. Die Felderhaut weist dabei eine durch Furchen hervorgerufene unregelmäßige, rautenförmige Felderung auf. Die Leistenhaut tritt nur an den Handflächen und Fußsohlen auf. Dabei findet man ca. 0,5 mm breite Leisten bzw. Rillen, deren Muster genetisch festgelegt sind. Von innen nach außen können in der Epidermis folgende Schichten unterschieden werden: Stratum basale, Stratum spinosum, Stratum granulosum, Stratum lucidum und Stratum corneum (Wrassner, G., 2009, S.83-87).

Die Dermis ist für die mechanische Festigkeit und Elastizität der Haut verantwortlich. In ihrem Interstitium befinden sich Zellen des körpereigenen Abwehrsystems. In die

Dermis sind Haarfollikel sowie Talg-, Schweiß- und Duftdrüsen eingebettet (<http://www.wundkompendium.de/cms/hauschichten.html>). Die Dermis geht ohne scharfe Begrenzung in die Subcutis über. Die Unterhaut besteht aus Fettgewebsläppchen, deren Hauptfunktionen die Energiespeicherung, Wärmeisolation und die Polsterung gegen mechanische Einwirkungen sind (<http://www.wundkompendium.de/cms/hauschichten.html>).

1.1.2 Indikationen

Eine Hauttransplantation ist dann indiziert, wenn man einen bestehenden traumatischen oder operativen Hautdefekt nicht mehr primär verschließen kann oder der primäre Verschluss des Defektes zu einer funktionellen Einschränkung führen würde. Die Voraussetzung für eine Transplantation ist, dass die zu versorgende Wunde so beschaffen ist, dass ihr Wundbett gut durchblutet ist, um das Transplantat in der Zielregion über Diffusion ernähren zu können. Bei der überwiegenden Zahl der Hauttransplantate sind Spender und Empfänger dieselbe Person, nur in Ausnahmefällen kann auf eine Hauttransplantation mittels glycerolkonservierter Fremdhaut ausgewichen werden.

Zu den freien avaskulären Hauttransplantaten werden die Voll- und Spalthauttransplantate gezählt sowie lokal gestielte Hauttransplantate, wie zum Beispiel Schwenk- oder Rotationslappen, gefäßgestielte Fernlappen und mikrovaskuläre Transplantate. Die Entscheidung für das jeweilige Vorgehen wird von einer Vielzahl verschiedener Faktoren beeinflusst. Bei der Art der Blutversorgung muss zwischen der direkten Versorgung des Lappens durch das Wundbett und der indirekten Versorgung der Lappen mit Gefäßneuanschlüssen entschieden werden. Außerdem wird der Ort der Lappenentfernung in die Entscheidung miteinbezogen, um zwischen einer Nah- bzw. Fernplastik zu wählen (Knapp, K., et al., 1999, S. 780).

1.1.3 Das Vollhauttransplantat

Das Vollhauttransplantat besteht aus der Epidermis und dem gesamten Korium. Die Transplantation von Vollhaut ist an Wundbereichen mit mechanisch stark beanspruchten Stellen angezeigt sowie wenn das Transplantat von gleicher Beschaffenheit (Farbe und Textur) sein soll. Auch bei sehr großen und tiefen Hautdefekten und bei fehlender Granulationstendenz können Vollhauttransplantate

indiziert sein. Die Größe der Transplantate ist durch die Entnahmestelle limitiert, da diese entweder durch eine primäre Naht oder eine einfache Lappenplastik verschlossen werden muss. Vollhauttransplantate zeichnen sich durch eine geringe Schrumpfungstendenz und sehr hohe Belastbarkeit aus – dies stellt im Vergleich zu Spalthauttransplantaten einen erheblichen Vorteil dar (Chick, L. R., 1988, S. 358).

1.1.4 Das Spalthauttransplantat

Bei einem Spalthauttransplantat werden im Gegensatz zum Vollhauttransplantat die Epidermis und Teile der Dermis mit einer Dicke von 0,2–0,6 mm entnommen und transplantiert. Grundsätzlich kann man die Spalthauttransplantate in drei Gruppen unterteilen. Man unterscheidet dabei nach der Dicke der Transplantate, die entscheidend für die spätere Pigmentierungsstruktur und funktionelle Qualität ist. Die Spalthauttransplantate werden in dünne, sog. Thiersch-Ollier-Transplantate (0,15–0,3 mm), mittlere, sog. Blair-Brown-Transplantate (0,3–0,45 mm), und dicke, sog. Padgett-Transplantate (0,45–0,6 mm), unterteilt. Vollhauttransplantate, die auch als Wolfe-Krause-Transplantate bezeichnet werden, sind in der Regel dicker als 0,6 mm (Andreassi, A., et al., 2005, S. 333).

Klassifikation

Dünn	0,15–0,3 mm	Thiersch-Ollier-Transplantate
Mittel	0,3–0,45 mm	Blair-Brown-Transplantate
Dick	0,45–0,6 mm	Padgett Transplantate

Tab. 1: Klassifikation der Spalthauttransplantate (Andreassi, A., et al., 2005, S. 333)

Dünne Transplantate sind gegenüber dem Empfängerbett sehr anspruchslos und hinterlassen am Entnahmeort kaum Narben. Sie sind jedoch oftmals sekundären Schrumpfungen unterworfen, da die sehr dünne Haut nur wenig widerstandsfähig ist. Aufgrund der fehlenden Anteile der Dermis unterliegen die dementsprechenden Bereiche einer nicht unerheblichen Retraktion. Dünne Transplantate werden aus diesem Grund überwiegend an Orten mit geringer Beweglichkeit, wie z. B. am Unterschenkel, verwendet (Andreassi, A., et al., 2005, S.46), (Altmeyer, P., 2010, S.81). Am häufigsten werden mittlere Spalthauttransplantate angewendet, da sie kaum sekundäre Schrumpfungen entwickeln. Bei diesen Transplantaten werden häufig an der Entnahmestelle hypertrophe Narben und Keloidbildungen beschrieben (Altmeyer, P., 2010, S.84).

Zur Entnahme der Spalthauttransplantate dienen Dermatome, bei denen Dicke und Breite der Spalthaut variabel verstellbar sind. Vor der Behandlung können die Donorregion und das Dermatommesser mit einem Silikon-Gleitspray besprüht werden, um das Heben der Spalthaut zu erleichtern. Nach gleichmäßigem Anspannen der Spalthautentnahmestelle erfolgt die Transplantatentnahme mit dem Dermatom. Es folgen eine sorgfältige Blutstillung sowie die Anpassung des Transplantates mit anschließender Fixation im Empfängerbett mittels Naht, Klammern und Fibrinkleber.

Ein Großteil der Spalthautentnahmestellen heilt folgenlos ab. Es werden jedoch nicht selten Wundheilungsstörungen in diesen Bereichen beschrieben, die nicht selten einen zweiten operativen Eingriff erforderlich machen (Belli, E. et al., 1999, S.63).

1.1.5 Versorgung der Spalthautentnahmestelle

Der Spalthautentnahmedefekt stellt im klinischen Alltag aus ästhetischen Gründen und aufgrund des schmerzhaften Charakters dieser iatrogen verursachten Wunden eine große Herausforderung dar. Bei der postoperativen Wundbehandlung hat man sich heute von den früher gebräuchlichen trockenen Wundaufgaben entfernt und die positiven Eigenschaften einer feuchten Wundversorgung erkannt (Jones, V. et al., 2006, S. 777; Knapp, K. et al., 1999, S. 178).

Zu diesen heute gebräuchlichen Verbänden gehören:

- Hydrokolloidverbände;
- Haemostypische Verbände;
- Fettgaze und/oder Salbenwundaufgaben;
- Wundfolien, Aufgaben und Epigraft-Kompressen wie Cuticell® (BSN medical, Hamburg);
- Beschichtete Silikonauflagen wie Cica-Care® (Smith&Nephew, Tuttlingen);
- Polyurethanfolie wie Barriere Flex® (Naturelize, Bad Emstai) und Mepilex® (Mölnlycke Healthcare, Erkrath);

1.2 Die Wundheilung

„Die Wundheilung ist die Zusammenfassung sämtlicher physikalisch-chemischer, biochemischer, biologischer und morphologischer Vorgänge, die ein gemeinsames Ziel haben: Wiederherstellung der Gewebereinheit durch Bildung neuer Strukturen, die mehr oder weniger der ursprünglichen Funktion gewachsen sind“ (Sedlarik, K. M., 1993, S. 8).

Jeder chirurgische Eingriff geht zunächst mit einer Gewebedurchtrennung einher. Dabei werden verschiedene Gewebetypen in ihrer strukturellen Integrität verletzt. Je nach Größe und Lokalisation können die Auswirkungen für den Organismus unterschiedlich schwere Konsequenzen bis hin zum Tod haben. Die Läsionen können im Weichgewebe, im Hartgewebe oder in beiden Schichten entstehen. Der Organismus versucht die verletzte Struktur wiederherzustellen oder zu ersetzen. Dabei stellt die Wundheilung einen natürlichen biologischen Prozess dar, der bereits binnen Minuten nach der Wundsetzung beginnt.

Die Phasen der Wundheilung sind das Ergebnis eines Zusammenspiels von katabolen und anabolen Prozessen, wobei vier morphologische Phasen unterschieden werden (Ehrenfeld, M., 2006, S.206).

In der exsudativen Phase füllt sich die frische Wunde mit Wundsekret und es kommt zum Einbluten in den Defekt. Durch die Verletzung des Endothels von Blutgefäßen werden die Thrombozyten veranlasst, sich an die geschädigte Gefäßwand anzuheften und zu aggregieren. Dabei kommt es zur primären Blutstillung durch Eintritt der Blutgerinnung. Darüber hinaus erfolgt die Freisetzung von thrombozytären Wachstumsfaktoren (WF), welche die Proliferation der Endothelien und Fibroblasten stimulieren. Gleichzeitig führt eine Kaskade von proteolytischen Reaktionen zur Aktivierung verschiedener Serinproteasen, die Fibrinogen zu Fibrin umsetzen und den Koagulationsvorgang initiieren. Zirkulierende Inhibitionsfaktoren wirken einer überschießenden Gerinnung entgegen. Die Auflösung des Blutgerinnsels wird durch die gleichzeitige Aktivierung des fibrinolytischen Systems über das aktive Plasmin katalysiert. Durch die Anlockung von Makrophagen und Granulozyten und die Freisetzung von Proteasen wird die Beseitigung von geschädigten und nekrotischen Zellen veranlasst (Singer, A.J. et al., 1999, S.738).

Die Grundlage für diesen Wundheilungsprozeß ist ein komplexes Zusammenspiel aus Zytokinen und WF auf molekularer Ebene. Diese WF sind in verschiedenen Zellen gespeichert und werden beim Wundheilungsprozess getriggert freigesetzt.

Das Ziel der Wundheilung ist eine vollständige Wiederherstellung von Form und Funktion des Gewebes, der restitutio ad integrum. Dies ist oftmals nicht möglich, sodass sich Narbengewebe in Form einer Defektheilung bilden.

1.3 Wundheilungsstörungen

Als Wundheilungsstörung bezeichnet man einen atypischen und verzögerten Wundheilungsverlauf. Allgemein kann es bei allen Arten von Wunden zu solchen Störungen während der Abheilungsphase kommen. Die Häufigkeit nimmt dabei mit der Komplexität der Wunde zu. Die Heilung und Behandlung komplizierter Wunden wie zum Beispiel aktinischer Wunden (Strahlenwunden), die durch die Bestrahlung ionisierender Strahlen entstehen, müssen als wesentlich problematischer eingestuft werden als die Behandlung einfacher Wunden wie zum Beispiel mechanisch verursachter Wunden. Unterschieden werden können Wunden in mechanisch verursachte Wunden (Schnitt-, Schürf-, Platzwunden), thermische Wunden (Verbrennungen, Erfrierungen), chemische Wunden (Verätzungen durch Säuren oder Basen) oder auch Strahlenwunden (Bestrahlung durch ionisierende Röntgenstrahlung) (Blank, I., 1997, S. 10).

Wundheilungsstörungen können aseptische und septische Ursachen haben:

- zu den **akuten, aseptischen Wundheilungsstörungen** zählen: Wundhämatome, Serome, Wundrandnekrosen, Wunddehiszenzen
- zu den **chronischen aseptischen Wundheilungsstörungen** zählen: hypertrophe Narben, Keloidbildung, atropher Ulkus
- **akute, septische Wundheilungsstörungen** können pyogenen, putriden, anaeroben, viralen sowie toxischen Ursprungs sein
- zu den **chronischen septischen Wundheilungsstörungen** zählen: Fisteln, infizierte Ulkuse

	Serom	Weichteil- nekrosen	Wunddehiszenz / Ruptur	Wundinfektion
Definition	Hohlraum im Wundgebiet, in dem sich Blut, Serum und Lymphe ansammeln	Gewebe- untergang z.B. durch ungenügende Durchblutung, die zu oberflächlichen oder tiefer gelegenen Weichteil- nekrosen führt	Postoperative Wunddehiszenz entweder komplett (alle Schichten), inkomplett (intaktes Peritoneum) oder inapparent (Hautnaht noch geschlossen)	Bakterielle Infektion einer primär sterilen Wunde mit Ausbildung von Pus, kann von einer Membran umgeben (Abszess) oder diffus im Gewebe verteilt sein (Phlegmone)
Entstehung	Durch Reiz- zustände im Wundgebiet z.B. durch Fremdkörper oder bei behindertem Lymph- abfluss	Bei inadäquater Schnittführung, starker Traumatisierung der Haut, falsche Nahttechnik	Ischämisierende Nähte, Malnutrition, Faktor XIII- Mangel, Adipositas, Diabetes mellitus, Kortikoide, Antibiotika	Vielzahl von Faktoren: u.a. Abwehrlage, Fremdkörperreiz, Keimanzahl, Gewebeischämie
Diagnostik	Blick- diagnose, Palpation, Sonographie	Blickdiagnose, Blutbild und Gerinnungs- kontrolle	Blickdiagnose, sanguinolente Wundsekretion, Darmparalyse	Oftmals prima vista- Diagnose, Leukozytose, Fieber

Tab. 2: Übersicht postoperative Wundheilungsstörungen (Blank, I., 1997, S.12)

1.4 Wachstumsfaktoren

1.4.1 Allgemein

Bei den WF handelt es sich um eine heterogene Gruppe von Polypeptiden, die der Informationsübertragung von Zelle zu Zelle dienen und in allen Phasen der Wundheilung eine wichtige Rolle spielen. Die wesentlichen Aufgaben der WF stellen die chemotaktische Aktivität zur Anlockung von Entzündungszellen und Fibroblasten sowie die Kapillareinsprossung im Wundmilieu dar (Lippert, H., 2002, S.163).

Dabei lassen sich im Bereich der gesetzten Wunde nahezu alle bekannten WF beobachten (Hunt, T.K. et al., 1989, S.111). Zu den wichtigsten, WF herstellenden Zellen gehören die Thrombozyten, Makrophagen, Epithelzellen, Fibroblasten und Endothelzellen. Teilweise können die Faktoren jedoch auch von inneren Organen, wie Lunge, Milz und Herz, produziert werden (Lippert, H., 2002, S.163).

Die WF können autokrin, parakrin und endokrin Einfluss nehmen. Dabei erfolgt die Wirkung durch die Bindung an den jeweiligen Rezeptoren auf der Oberfläche der Zielzelle (Lippert, H., 2002, S.163).

Für diese Funktion spielen die thrombozytären WF die wichtigste Rolle.

1.4.2 Thrombozytäre Wachstumsfaktoren

Seit den 1980er Jahren ist bekannt, dass die WF, die physiologisch in der α -Granula der Thrombozyten gespeichert sind, entscheidende Faktoren für die Wundheilung darstellen (Busch, C. et al., 1976; , S.493). Durch die Öffnung und Aktivierung dieser α -Granula bei der Thrombozytenaggregation in der initialen Phase der Wundheilung kommt es zur Ausschüttung der Wachstumsfaktoren und damit zum gewünschten Wirkungseintritt der WF. Zu den thrombozytären Wachstumsfaktoren gehören:

PDGF

PDGF wird von Thrombozyten, Fibroblasten und Endothelzellen produziert. Das Glykoprotein ist ein Dimer mit einem MG von 24 KD und ist aus den Peptidketten A und B zusammengesetzt. Es baut sich variabel aus den beiden Peptidketten auf und kann in den Isoformen AA, AB und BB auftreten.

Der thrombozytäre PDGF tritt am häufigsten in der Isoform AB auf, wohingegen andere PDGF produzierende Zellen die homodimere Isoform produzieren (AA bzw. BB) (Lippert, H., 2002, S.163).

Die A-Kette kann entweder aus 110 oder 125 Aminosäuren bestehen, die B-Kette ist aus 109 Aminosäuren aufgebaut (Johnsson, A. et al., 1984, S.921). Es gibt zwei spezifische Rezeptoren (a und b), an die sich alle 3 Isoformen des PDGF binden können. PDGF wirkt auf parakrinem und autokrinem Weg chemotaktisch und mitogen auf die Proliferation von mesenchymalen und hämatopoetischen Zellen. Durch die Stimulation zur Produktion von Hyaluronsäure, Fibronectin und Kollagenasen wird auch die Wirkung auf die extrazelluläre Matrix beschrieben (Lippert, H., 2002, S.163).

TGF- β

Es wurden bisher 5 Isoformen des TGF- β beschrieben. Nur die Formen TGF- β 1, TGF- β 2 und TGF- β 3 spielen für den Menschen eine wichtige Rolle. Das Peptid hat aktiv ein MG von 20 KD, wobei es die biologische Aktivität durch die Bindung an Proteine (z. B. an α -Makroglobulin) reguliert. Nahezu sämtliche Zellen besitzen Rezeptoren für das TGF- β . Der WF wird aus Thrombozyten, Makrophagen, Fibroblasten, Keratinoblasten und Lymphozyten hergestellt und wirkt einerseits durch die reversible Hemmung des Zellwachstums – insbesondere des ektodermalen Ursprungs – und andererseits chemotaktisch und mitogen auf Fibroblasten (Lippert, H., 2002, S.163).

EGF

EGF wird in den Thrombozyten, Nieren, Speicheldrüsen und Tränendrüsen sezerniert. Sein MG liegt bei 6,2 KD und bindet an den EGF-Rezeptor der Zielzellen. Er wird mit der Proliferation und Migration der epithelialen Zelltypen in Zusammenhang gebracht (Lippert, H., 2002, S.163).

IGF

IGF-1 steht in Verbindung mit dem Proinsulin und wird wie dieses durch limitierte Proteolyse aktiviert. Beim aktivierten Peptid beträgt das MG 7,6 KD. Die in Thrombozyten, Lunge, Herz, Pankreas und Gehirn produzierten WF wirken endokrin und stimulieren die Proteinsynthese sowie die Proliferation von Fibroblasten (Lippert, H., 2002, S.163).

β -FGF

Das MG beträgt beim β -FGF 15 KD. Der Faktor wirkt mitogen und chemotaktisch auf Fibroblasten, glatte Muskelzellen, Endothelzellen und Keratinozyten (Aktas, G. et al., 2000, S.227).

PF-4

Dieses Glykoprotein spielt eine Rolle bei der Blutgerinnung und besitzt ein MG von 14 KD (Proudfoot, A.E. et al., 1995, S.19). Es kommt durch den WF zur Einwanderung von Epidermiszellen und Entzündungszellen und zu einer Proliferation von Endothelzellen.

β -TG

β -Thromboglobulin ist Bestandteil der alpha-Granula und wird so wie auch die WF in großen Mengen bei der Thrombozytenaktivierung freigesetzt. Es bewirkt in großem Maße den Bindegewebsaufbau und wirkt gleichzeitig chemotaktisch auf Fibroblasten (Majumdar, S. et al., 1991, S.5785).

1.4.3 Bisheriger Wissensstand zum therapeutischen Einsatz von WF

Die Wundheilung ist ein komplexer Vorgang, der ein enges Zusammenspiel unterschiedlichster Mechanismen aus zellulären und humoralen Faktoren darstellt. Die Kenntnis darüber hat schon früh dazu geführt, durch gezielte Beeinflussung den gesamten Prozess zu beschleunigen bzw. bei verzögerter Wundheilung diesen zu optimieren. Zum einen werden hierzu einzelne, gentechnisch hergestellte Wachstumsfaktoren, wie z. B. BMPs, appliziert und zum anderen körpereigene Wachstumsfaktoren gewonnen und in die Defektregionen eingebracht. Hierzu ist u. a. das Plättchenreiche Plasma zu zählen (Lee, H.W. et al., 2008, S.691). Bereits im Jahr 1969 wurden erstmals von Schulte et al. Versuche unternommen, die physiologische Anzahl von Thrombozyten (150–300 tsd/ul) durch Zentrifugation von Vollblut zu erhöhen. Das zentrifugierte Eigenblut wurde in der Studie zur Füllung von Zysten im Kieferbereich verwendet, mit dem Ergebnis, dass eine verminderte Koagulumretraktion und somit eine Koagulumstabilisierung entstand (Schulte, W., 1969, S.854). Die Knochenheilung war dadurch besser.

1997 kam es durch Whiteman et al. zur Erstbeschreibung von PRP als sog. platelet rich plasma. Ziel der Studie waren eine verbesserte knöchernen Regeneration bei Sinusbodenelevationen, oronasalen Fisteln, Mund-, Antrum- Verbindungen und Kieferspaltosteoplastiken sowie ein positiver Weichteileffekt (Whitman, D.H. et al., 1997, S.1294).

1998 wurde von Marx erstmals der Einsatz von PRP zur Verbesserung des Einheilverhaltens von Knochenaugmentaten beschrieben (Marx, R.E. et al., 1998, S.638). Infolgedessen wurde eine Vielzahl von Studien zum Thema PRP durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Studien waren sehr unterschiedlich. Weibrich et al. untersuchten diesen Effekt abhängig von der erreichten Thrombozytenanreicherung im PRP und verglichen diesen mit der erzielten Knochenregeneration nach Implantatsetzung. Das Ergebnis dieser Studie zeigte, dass das PRP mit der Thrombozytenkonzentration von 1.000.000/ μ l die besten Ergebnisse in Bezug auf Knochendichte, Stabilität und Regeneration erbrachte. Begleitet wurden diese Ergebnisse von einer ebenso verbesserten Weichteilregeneration (Weibrich, G. et al., 2004, S.665).

2007 führten Jérôme A. H., Lineboom et al. eine Studie über PRP und die Wundheilung bei Patienten mit beidseitiger Sinusbodenelevation und eine Implantatsetzung mit Eigenknochentransplantaten durch. Untersucht wurde der Einfluss von PRP auf die Wundheilung und die Gefäßdichte in der Mukosa. Dabei erfolgte die Herstellung des PRP nach der sog. Curasan-Zentrifugations-Methode (Weibrich, G. et al., 2002, S.665). Bei dieser Methode kommt es zu einer ersten Zentrifugation von 8,5ml Zitratblut in einer herkömmlichen Laborzentrifuge für 10 Minuten bei 2.400 Umdrehungen pro Minute. Das die Thrombozyten enthaltende Plasma wird mit einer langen Kanüle in eine weitere Monovette überführt. Danach erfolgt eine zweite Zentrifugation für 15 Minuten bei 3.600 Umdrehungen pro Minute. Der so entstandene thrombozytenarme Plasmaüberstand wird bis auf eine etwa 0,3 bis 0,5 ml Schicht (PRP) abpipettiert (Weibrich, G. et al., 2002, S. 665). Die Herstellung des in dieser Studie verwendeten PRP's erfolgte in Anlehnung an die Methode von Weibrich et al. und Fa. Curasan.

Eine weitere Studie von Barry L. Eppley et al. zog eine genaue Analyse des PRP mit dem Fokus auf die Plättchenanzahl sowie die Anzahl und Art der Wachstumsfaktoren im PRP nach sich (Eppley, B.L. et al., 2006, S.145).

Die meisten Studien mit dem Versuch der Herstellung eines Thrombozytenkonzentrates erreichten durchschnittlich eine drei- bis vierfache Anreicherung.

In den letzten Jahren wurde PRP ebenfalls mit großen Behandlungserfolgen bei Weichteildefekten eingesetzt (Knox, R.L. et al., 2006, S.260); (Rozman, P. et al., 2007, S.156); (Roukis, T.S. et al., 2006, S.139). Dabei wurde v. a. die positive Wirkung des PRP auf die Zelldifferenzierung verifiziert. Die Beeinflussung der an der Wundheilung beteiligten Zellen, wie den Keratozyten, Endothelzellen, Fibroblasten sowie den Leukozyten, und die positive Stimulation der Cytokinrezeptoren mittels der bekannten WFs konnte dabei mehrfach belegt werden. Darüber hinaus wurden vergleichende Studien über die verschiedenen Verfahren der Herstellung von PRP sowie zur Thrombozytenanzahl und Wirkung der verschiedenen WF durchgeführt (Castillo, T.N. et al., 2011; , S.266).

1.5 Ziel und Fragestellungen

Im klinischen Alltag stellen die Versorgung und die Behandlung von Spalthautentnahmedefekten oftmals Probleme dar. Es wird eine Unterstützung des Wundheilungsprozesses sowie eine Reduktion von Wundinfektionen und Wundheilungsstörungen bei der Wundversorgung angestrebt. Die Optimierung der Wundheilung spielt zum einen eine wichtige Rolle bei der Wirtschaftlichkeit der Wundversorgung, zum anderen führt eine Reduktion der postoperativen Wundschmerzen zu einer erheblich verbesserten Patientenzufriedenheit. Wie bei jeder iatrogen verursachten oder chronisch bestehenden Wunde kann es zu einer Infektion im Rahmen der Wundsetzung bzw. Wundversorgung kommen, die zu einer erheblichen Wundheilungsstörung führen kann. Als häufigstes klinisches Bild treten hypertrophe Narben, Keloidbildung und Wundinfektionen an den Entnahmestellen auf (Altmeyer, P., 2010, S.84); (Belli, E. et al., 1999, S. 63).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, in einer prospektiven, randomisierten Studie den Effekt von PRP in der Behandlung von Spalthautentnahmestellen zu untersuchen.

Es sollte der zeitliche Verlauf und der Fortschritt der Wundheilung an den postoperativen Tagen 3, 7, 10 und 60 nach Wundsetzung beurteilt und die Behandlung der Spalthautentnahmestellen mit PRP und ohne Verwendung von PRP verglichen werden.

Die Beurteilung erfolgte subjektiv mittels eines Narbenscores (Vancouver Scar Scale) und objektiv mittels computerunterstützten Messverfahren (ImageJ®).

Auf folgende Fragestellungen wird eingegangen:

- Wie zeigt sich der klinische Wundheilungsprozess im postoperativen Verlauf?
- Ist es möglich, eine Beschleunigung bzw. Verbesserung der Wundheilung zu erkennen?
- Kann die Ästhetik der Narbenbildung im Vergleich verbessert werden?
- Kommt es während der Behandlung zu einer verminderten / vermehrten Wundinfektion?

Die vorliegende Arbeit ist Teil einer gemeinsamen Studie, die mit der Doktorandin Christiane Elisabeth Müller durchgeführt wurde. Diese untersuchte die Wirkung von PRP auf die Radialistransplantatentnahmestellen. Der Titel dieser Arbeit lautet: „Die Untersuchung der Wundheilung komplexer Wunden am Beispiel von Radialistransplantatentnahmestellen nach Behandlung mit autologen Wachstumsfaktoren.“ Da diese Arbeit zum Zeitpunkt der Veröffentlichung der vorliegenden Arbeit noch nicht eingereicht ist, kann auf diese Arbeit nur Bezug genommen und nicht zitiert werden. Zu möglichen Überschneidungen kann es aufgrund eines gemeinsamen Patientenkollektives kommen, welches mit dem in dieser Studie hergestellten PRP an zwei verschiedenen Wunden behandelt wurde und die Wundheilung dieser beiden Wunden getrennt voneinander dokumentiert und analysiert wurde. Die Beschreibung der Methode zur Herstellung des PRP, zur Applikation des PRP und der Bestimmung der Laborparameter mit den dazugehörigen Abbildungen 3, 4, 5, 6, 7, 8 und 9 können Übereinstimmungen aufweisen. Die Beschreibung der Ergebnisse bei der Untersuchung und Analyse der Laborparameter und der Anreicherung des PRP mit den dazugehörigen Abbildungen 34, 35, 36 und den Tabellen 13 und 14 können ebenso Übereinstimmungen aufweisen.

2 Material und Methode

2.1 Patientenkollektiv

Es wurden Patienten mit einer radikalen Tumorresektion mit simultaner, plastischer Rekonstruktion mittels eines mikrovaskulären Radialistransplantates und der Deckung der Entnahmestelle mit Spalthaut vom Oberschenkel (Dicke der Transplantate: 0,6 mm) in diese Studie eingeschlossen. Insgesamt wurden 30 Patienten (12 Frauen und 18 Männer) in die Studie integriert. Das Durchschnittsalter lag bei 62 Jahren. Es wurden keine Ausschlusskriterien, wie Allgemeinerkrankungen (z. B. Diabetes, Herz-Kreislauferkrankungen, Infektionskrankheiten), Alter oder Geschlecht für die Teilnahme an dieser Studie festgelegt. Alle Patienten wurden schriftlich und persönlich über die Studie 24 Stunden präoperativ aufgeklärt. Die Prüfung und Genehmigung des Versuchsprotokolls erfolgte durch die Ethikkommission der Technischen Universität München (Projektnummer: 2730/10).

2.1.1 Bestimmung der Zentrifugationsparameter

Parallel und vorbereitend zu dieser klinischen Studie wurden am Lehrstuhl für Medizintechnik der Technischen Universität München (Prof. Dr. Dr. Wintermantel) invitro Untersuchungen zur Herstellung von Thrombozytenkonzentraten in Abhängigkeit von Thrombozytenzahl im Vollblut, Aktivierungszustand, beinhalteten WF und Kontaminierung durchgeführt, um eine wissenschaftliche Basis für die Herstellung eines vollautomatischen Gerätes zu schaffen. Durch die Durchführung einer präklinischen Studie wurden die optimalen Zentrifugationsparameter für die Herstellung der Thrombozytenanreicherung festgelegt. Diese Parameter konnten zur klinischen Herstellung des PRP übernommen werden.

2.1.2 Herstellung des thrombozytenreichen Plasmas

Es wurden für die Blutentnahme, die Herstellung von PRP, die Zählung der Blutplättchen sowie die Bestimmung der WF in den verschiedenen Proben folgende Instrumente und Geräte verwendet:

1. Zentrifuge Universal 32/32 R (Andreas Hettich GmbH & Co KG), Rotor 1624 (Tuttlingen),
2. S-Monovette 8,5 ml CPDA (1 ml) (SARSTEDT, Nümbrecht),
3. S-Monovette 2,7 ml EDTA (1,6 mg) (SARSTEDT, Nümbrecht),
4. Einmalinjektionskanülen 0,90 x 70 mm u. 0,80 x 40 mm BL/LB (Braun, Melsungen),
5. Multiadapter für S-Monovetten (SARSTEDT, Nümbrecht),
6. Insulinspritze Olunifix® 40 solo U-40 1 ml/40 I.U. (Braun, Melsungen),
7. Eppendorfgefäß CryoPure 1,8 ml steril (SARSTEDT, Nümbrecht),
8. Hirudin (Dynabite-Munich-German),
9. ELISA Quantikine Human PDGF-AB Immunoassay (R&D Sytems, Inc., Minneapolis),
10. Multiplate-System, (Fa. Dynabyte GmbH, München), Geräte-Nr. 100148-MKC_AA_GE-G-Multiplate.1-0351,
11. Eppendorf Centrifuge 5415D (SARSTEDT, Nümbrecht),
12. Eppendorf Research Pipette (SARSTEDT, Nümbrecht)

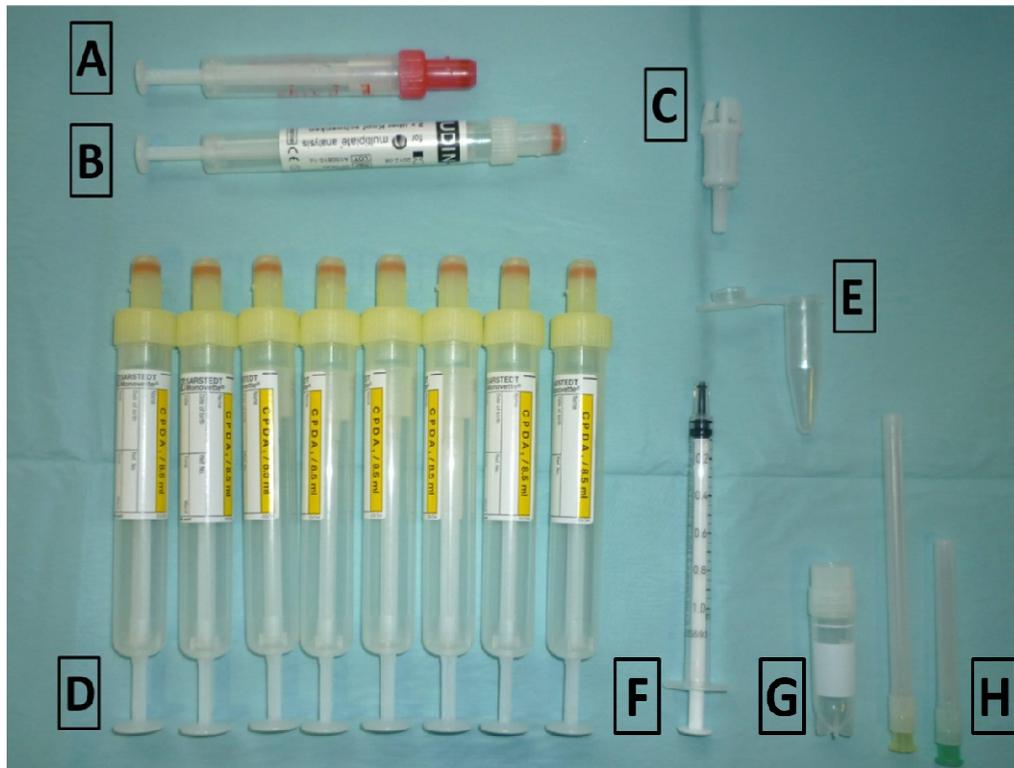


Abb. 3: Materialien zur Herstellung von PRP: A=EDTA-Röhrchen, B=Trapp-Röhrchen, C=Adapter, D=CPDA-Röhrchen, E=Eppendorfgefäß, F=Insulinspritze, G=Eppendorfgefäß, H=Kanülen; (siehe Müller, C., 2015: „Die Untersuchung der Wundheilung komplexer Wunden am Beispiel von Radialistransplantatentnahmestellen nach Behandlung mit autologen Wachstumsfaktoren.“, unpublished manuscript, MKG, TU-München)

Zur Herstellung von autologem Thrombozytenkonzentrat wurden den Patienten intraoperativ über einen arteriellen oder venösen Zugang insgesamt 68 ml Blut (8 SARSTEDT CPDA-Röhrchen, siehe Abb. 3D) abgenommen. Um die homogene Durchmischung des Vollblutes mit den Antikoagulanzen zu gewährleisten, wurden die CPDA-Röhrchen direkt nach der Entnahme 10–15-mal per Hand geschwenkt. Zusätzlich wurde für ein großes Blutbild ein weiteres EDTA-Röhrchen (2,7 ml, siehe Abb. 3A) entnommen, um die im Blut befindliche Anzahl der Thrombozyten zu bestimmen. Anschließend wurden alle CPDA-Röhrchen in der Zentrifuge bei einer Umdrehung von 1.750 g (RZB) für 6 Minuten zentrifugiert.

Durch die Zentrifugation ergab sich eine Separation des Vollblutes in folgende drei Fraktionen (siehe Abb. 4):

- Am Gefäßboden befanden sich hauptsächlich Erythrozyten.
- Über die Erythrozyten lagerte sich der sog. Buffy Coat ab.
- Die dritte Schicht bestand vorwiegend aus Plasma.

Der Plasmaüberstand wurde mit Neutralmonovetten und Kanülen (siehe Abb. 3B, C, H) abpipettiert, wobei darauf geachtet wurde, dass auch der Zellrasen unmittelbar über der Erythrozytensäule, der sog. Buffy Coat, bestehend aus Leukozyten und Thrombozyten, mitaufgenommen wurde. Ebenfalls wurde eine geringe Menge an Erythrozyten abpipettiert.

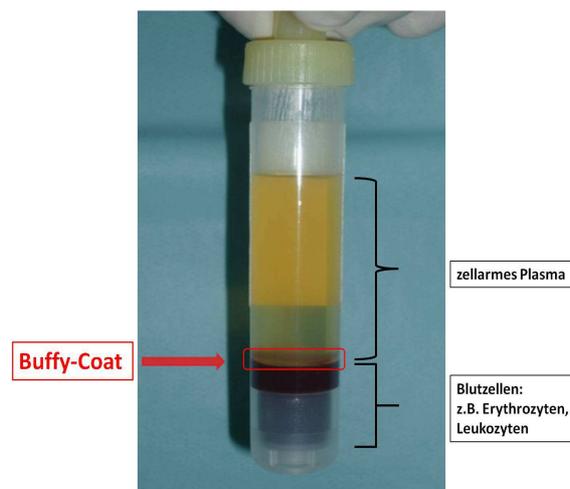


Abb. 4: CPDA-Röhrchen mit Blutzellen, Buffy-Coat und Plasma nach der ersten Zentrifugation; (siehe Müller, C., 2015: „Die Untersuchung der Wundheilung komplexer Wunden am Beispiel von Radialistransplantatentnahmestellen nach Behandlung mit autologen Wachstumsfaktoren.“, unpublished manuscript, MKG, TU-München)

Das Plasma mit Buffy Coat wurde anschließend in CPDA-freie Monovetten abpipettiert und diese in einem zweiten Zentrifugationsdurchgang mit einer Umdrehung von 2250 g (RZB) für 9 Minuten zentrifugiert (siehe Abb.5).

Es ergab sich eine Fraktionierung in die folgenden drei Bestandteile:

- Am Gefäßboden befanden sich die im ersten Schritt mitpipettierten Erythrozyten.
- Darüber lagerte sich das Thrombozytenkonzentrat ab.
- Die dritte Schicht bestand wiederum vorwiegend aus Plasma.

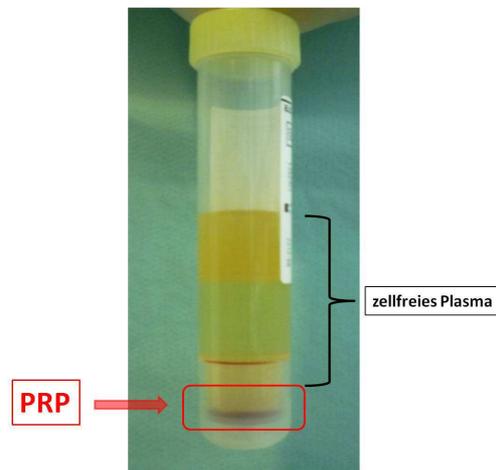


Abb. 5: CPDA-Röhrchen mit PRP und Plasma nach der zweiten Zentrifugation; (siehe Müller, C, 2015: „Die Untersuchung der Wundheilung komplexer Wunden am Beispiel von Radialistransplantatentnahmestellen nach Behandlung mit autologen Wachstumsfaktoren.“ unpublished manuscript, MKG, TU-München)

Das thrombozytenfreie Plasma wurde bis auf einen Überstand von 0,6 mm abpipettiert. Anschließend wurden der restliche Plasmaüberstand, das TK und die Resterythrozyten als Plättchenreiches Plasma (PRP) zusammen in eine Insulinspritze (Abb. 3F) aufgezogen (siehe Abb. 6).



Abb. 6: Zweimal 1 ml des fertig hergestellten PRP mit Resterythrozyten in Insulinspritze; (siehe Müller, C., 2015: „Die Untersuchung der Wundheilung komplexer Wunden am Beispiel von Radialstransplantatentnahmestellen nach Behandlung mit autologen Wachstumsfaktoren.“, unpublished manuscript, MKG, TU-München)

2.1.3 Applikation des thrombozytenreichen Plasmas

Nach der Entnahme der 0,6 mm dicken Spalthauttransplantate mittels Dermatome (Aesculap Power Systems ACCULAN® 3Ti, Braun, USA) wurde 1 ml PRP steril mit der Insulinspritze gleichmäßig über die gesamte Spalthautentnahmestelle verteilt. Anschließend wurden die Wunden sofort mit einem Wundverband (Mepilex® Pflaster in den Größen 15 cm x 15 cm, 15 cm x 20 cm, 10 cm x 10 cm Mölnlycke Health Care, Erkrath) versorgt. Die Spalthautentnahmedefekte wurden über den gesamten stationären Aufenthalt der Patienten von ca. 10 Tagen mit Mepilex® Pflaster versorgt. Die Fotodokumentation (Kamera: Coolpix S 1 von Nikon, Japan) erfolgte im Rahmen des Verbandswechsels zu den jeweiligen Analysezeitpunkten am 3., 7., 10. und 60. postoperativen Tag.

2.1.4 Bestimmung der Laborparameter

Folgende Laborparameter wurden erhoben:

- Thrombozytenfunktionsbestimmung (AU/min),
- präoperative Thrombozytenkonzentration ($10^3/\mu\text{l}$),
- Thrombozytenzahl im PRP ($10^3/\mu\text{l}$).

Thrombozytenfunktionsbestimmung

Die Thrombozytenfunktion wurde mittels Impedanzaggregometrie mit dem Multiplate®/TRAP- System (LOXO GmbH, Dossenheim, Deutschland) ermittelt.

Das für diese Studie zu analysierende Material bestand pro Patient aus 1 ml autologem PRP in einer 4,5 ml HIRUDIN-Monovette (Hirudin-Mindestkonzentration 20 $\mu\text{g/ml}$). Die Proben wurden bis zur Messung bei Raumtemperatur aufbewahrt. Die

Messung erfolgte ca. 30 Minuten nach der Herstellung des PRP.

Um mögliche analytische Störeinflüsse bei der Befundinterpretation berücksichtigen zu können, wurde zusätzlich ein kleines Blutbild (EDTA_Monovette 4,5 ml (siehe Abb.3A)) erstellt.

Bestimmung der präoperativen Thrombozytenkonzentration und der Thrombozytenzahl im PRP

Die Vollblutproben wurden mit dem Analysegerät Sysmex XE® 5000-2 (Sysmex GmbH, Hamburg, Deutschland) untersucht. Die Bestimmung der absoluten Thrombozytenzahl im Vollblut der teilnehmenden Probanden erfolgte hierbei durch die sog. hydrodynamische Fokussierung. Auch die Bestimmung der Thrombozytenzahl in den PRP-Röhrchen wurde mit dem Analysengerät Sysmex XE® 5000-2 durchgeführt.

Zur Errechnung des Anreicherungsfaktors wurden die **Thrombozytenzahlen** intraoperativ im Patientenvollblut und im PRP gemessen und in Relation zueinander gesetzt:

$$\text{Thrombozytenzahl im PRP / Thrombozytenausgangswert} = \text{Anreicherungsfaktor}$$

2.2 Datenerhebung

2.2.1 Klinische Beurteilung der Wundheilung

Die Beurteilung der Wundheilung der Spalthautentnahmedefekte erfolgte mittels Fotodokumentation am 3., 7. und 10. Tag postoperativ sowie am Nachsorgetermin im Rahmen der Tumornachsorge am 60. Tag.

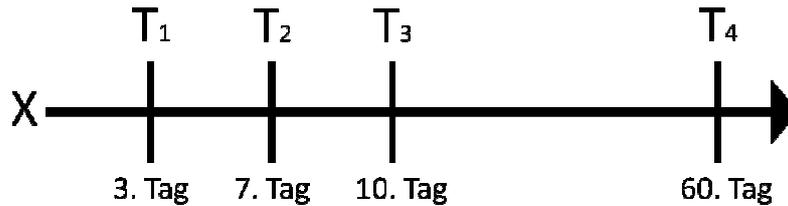


Abb. 7: Dokumentationszeitpunkte der Spalthautentnahmestelle

Die Fotodokumentation erfolgte jeweils im Zuge des routinemäßigen Verbandwechsels mit einer Digitalkamera Coolpix S1® (Nikon, Japan) zu den oben genannten Zeitpunkten. Diese Bilder dienten als Grundlage für die folgenden Analysen des jeweiligen Wundheilungsstatus.

Analyse 1:

Zunächst wurden zu jedem der oben genannten Dokumentationszeitpunkte **allgemeine Wundheilungskriterien** erhoben, die auf eine Wundheilungsstörung hindeuten:

- Wundirritation
- Entzündung
- Wundsekretion
- Blutung
- Nekrotische Wundareale
- Schmerzen

Abb. 8: Score für allgemeine Wundheilungskriterien

Die Auswertung erfolgte mittels einer ja/nein-Entscheidung. Dabei wurde für „ja“ ein Punkt, für „nein“ null Punkte vergeben. Abschließend wurde daraus die Summe errechnet (max. erreichbare Summe: 6). Die Auswertung erfolgte von den studierendurchführenden Personen selbst, also von nicht unabhängigen Personen, und die Werte wurden jeweils mittels eines t-Tests für unabhängige Stichproben verglichen.

Analyse 2:

Zudem wurden zu jedem einzelnen Dokumentationszeitpunkt für das jeweils vorliegende Wundheilungsstadium **spezifische relevante Kriterien** erhoben. Diese wurden im Vorfeld aus klinischen Erfahrungswerten definiert und sind für die einzelnen Wundheilungsstadien charakteristisch.

Tag 3 postoperativ	<ul style="list-style-type: none"> • Wundränder inhomogen • Bildung von Epithelinseln • belassene Epithelstreifen im Wundrandbereich
Tag 7 postoperativ	<ul style="list-style-type: none"> • Hyperämischer Wundcharakter • Schorf • Granulationsgewebe
Tag 10 postoperativ	<ul style="list-style-type: none"> • Fibrinbelag • Rötung • nekrotische Anteile
Tag 60 postoperativ	<ul style="list-style-type: none"> • generalisierte Schrumpfung • Keloidbildung • abgeschlossene Wundheilung

Tab. 3: Spezielle Wundkriterien zu den jeweiligen Dokumentationszeitpunkten

Dabei wurden jeweils vier Ausprägungsgrade unterschieden: 1 (nicht vorhanden), 2 (leicht vorhanden), 3 (mäßig vorhanden), 4 (stark vorhanden). Die Punkte wurden anschließend addiert (min. Wert: 3, max. Wert: 12) und die Werte jeweils mittels eines t-Tests für unabhängige Stichproben verglichen (siehe Tab. 3).

Analyse 3:

Analyse der Narbenbildung:

Eine Orientierung erfolgte hierbei an der Vancouver Scar Scale (VSS) (Baryza, M.J. et al., 1995, S.535). Dabei wurden die Kriterien der Pigmentierung, der Dehnbarkeit und der Höhe vollständig aus VSS übernommen. Das Kriterium der Durchblutung wurde in dieser Studie hinsichtlich des vorliegenden Kolorits modifiziert (siehe Tab. 4). Anstelle der in der VSS vorliegenden Kategorisierung in normal, rosa, rot, livide-

lila wurde hier eine Kategorisierung in hautfarben (wie das gesunde, umliegende Nachbargewebe), rosa, weißlich, dunkelrot-lila durchgeführt.

Für die vier verschiedenen Farbkategorien wurden folgende Punkte vergeben: 0 (hautfarben), 1 (rosa), 2 (weißlich), 3 (dunkelrot-lila). Dabei wurden hautfarbene Narben als im Hautniveau regelgerecht eingehheilte Narben, rosafarbene als Narben mit einer verlängerten Wundheilung, weißliche als Narben mit hyperplastischem Charakter und rötlich-lila verfärbte Narben aufgrund von verstärkter Verhornung, Hautatrophie und irregulärer Durchblutung als Narben mit abnormaler Wundheilung beurteilt. Für sämtliche Wunden jeder Gruppe (Kontrollgruppe/PRP-Gruppe) wurde eine Summe errechnet und die jeweiligen Summen verglichen.

<p>Pigmentierung:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = normal • 1 = gering • 2 = mäßig • 3 = stark 	<p>Dehnbarkeit:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = normal • 1 = geschmeidig • 2 = nachgiebig • 3 = derb • 4 = hart • 5 = kontrakt
<p>Höhe:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = Hautniveau • 1 = < 2 mm • 2 = 2-5 mm • 3 = > 5 mm 	<p>Durchblutung/ Kolorit:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0 = hautfarben • 1 = rosa • 2 = weißlich • 3 = dunkelrot-lila

Tab. 4: Modifizierter Vancouver Scar Scale zur Analyse der Narbenbildung

2.2.2 Morphometrische Bildanalyse

Zur quantitativen Analyse der Bilddaten wurden die Bildverarbeitungsprogramme GIMP® (Michael Natterer, San Jose) und ImageJ® (Wayne Rasband, Bethesda/Maryland) verwendet. In dieser Studie wurde die Möglichkeit der Farbraumanalyse genutzt, um den prozentualen Anteil der reaktiven Wundoberfläche (Wundoberfläche die homogen mit Schorf, Granulationsgewebe und Fibrinbelag bedeckt ist) in den einzelnen Wundheilungsphasen zu ermitteln und zu dokumentieren.

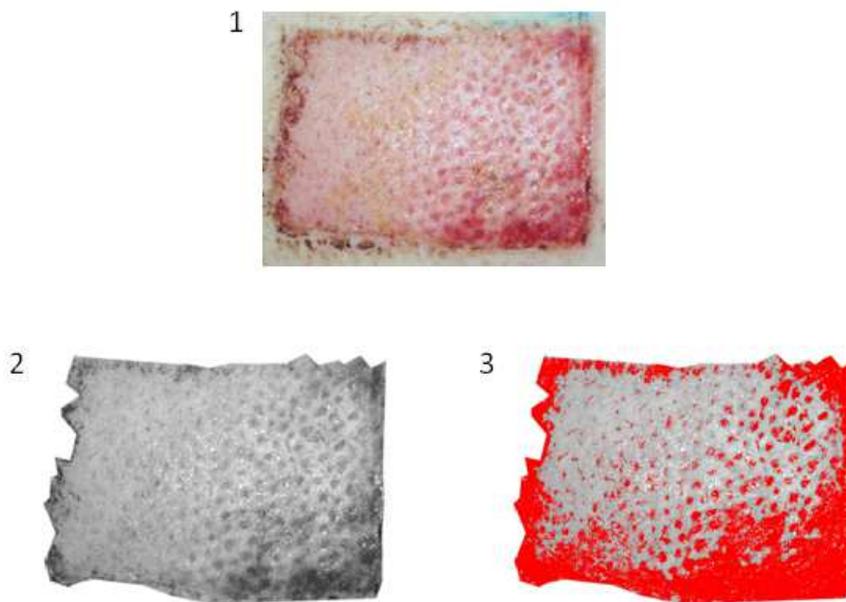


Abb.9: Morphometrische Bildanalyse: 1=Ausgangsbild, 2=Umwandlung in ein 8-Bit Grauwertbild, 3=Analyse mit ImageJ®; (siehe Müller, C., 2015 : „Die Untersuchung der Wundheilung komplexer Wunden am Beispiel von Radialistransplantatentnahmestellen nach Behandlung mit autologen Wachstumsfaktoren.“, unpublished manuscript, MKG, TU-München)

Prozedere:

- **Bild 1:** Original
- **Bild 2:** Alle Fotos wurden in der Nachbearbeitung in ein gleiches Raster gebracht und mit dem Bildbearbeitungsprogramm Gimp® in **8-Bit Grauwertbilder** umgewandelt. Dieser Schritt war für die Weiterbearbeitung in ImageJ® notwendig, um eine Analyse der Farbwertverteilung (Abb.9 Bild 3) durchführen zu können.
- **Bild 3:** Mit dem Programm ImageJ® konnten für diese 8-Bit-Grauwertbilder zum einen die Unterscheidungskriterien und zum anderen die Farbwertverteilung festgelegt werden. Dabei wurde ein individuell bestimmter Grauwert des Bildes mit dem klinisch erreichten Grad der Epithelialisierung und Granulation in der Oberflächenstruktur der Spalthautentnahmestelle gleichgesetzt. Um die Größenverteilung dieser Partikel analysieren zu können, muss das Grauwertbild in ein Binärbild umgewandelt werden. Die Schwellenwerte müssen festgelegt werden: die unteren ganz niedrig ~80; die oberen bei ~140, möglichst nahe des Peaks. Durch arbiträre Anpassung der Bilder konnten Fehler bei der automatischen Analyse minimiert werden. Die für diese Studie relevante Bildanalyse ist die sog. **Area Fraction**. Dabei wurde der Flächenanteil jeglicher Punkte (Pixel), die in der Vorbehandlung festgelegt wurden, im zu untersuchenden Bild analysiert. Die Area Fraction bestimmt den Flächenanteil am gesamten Bild, der als epithelialisiert gewertet werden kann. Diese Areale sind auf Bild 3 als rote Bereiche markiert und stellen die Bereiche dar die sich in der frühen Phase der Wundheilung befinden.

2.2.3 Statistik

In dieser Arbeit wurde für alle statistischen Auswertungen ein t-Test für unabhängige Stichproben angewandt. Hierfür wurde die Statistiksoftware GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc. CA 92037 USA) herangezogen. Die Darstellung der graphischen Elemente und der statistischen Ergebnisse erfolgte im Box-Whisker-Plot, in welchem das Minimum, das Maximum, das untere und das obere Quartil sowie der Median angegeben werden. Das Signifikanzniveau wird wie üblich bei $p < 0,05$ definiert.

3 Ergebnisse

3.1 Ergebnisse der klinischen Wundheilungsanalyse

Analyse 1:

Die statistische Auswertung des Scores für **allgemeine Wundheilungskriterien** ergab keinen signifikanten Unterschied im zeitlichen Wundheilungsverlauf der beiden Patientengruppen (siehe Tab. 7) und keinen zwischen den beiden Patientengruppen selbst (siehe Tab. 8).

PRP-Gruppe:	T1	T2	T3	T4
Patient 1	1	1	0	0
Patient 2	1	0	0	0
Patient 3	0	0	0	0
Patient 4	0	2	0	0
Patient 5	1	1	0	0
Patient 6	0	0	1	0
Patient 7	0	0	0	1
Patient 8	4	4	2	2
Patient 9	1	0	0	0
Patient 10	0	1	1	1
Patient 11	0	0	0	0
Patient 12	0	0	0	0
Patient 13	1	0	0	1
Patient 14	2	2	0	0
Patient 15	1	1	0	0
Patient 16	0	0	0	1
Patient 17	1	0	1	0
Medianwert:	0,765	0,706	0,294	0,353

Tab. 5: Score für allgemeine Kriterien/Auswertung der PRP-Gruppe

KG:	T1	T2	T3	T4
Patient 1	0	0	0	0
Patient 2	2	2	0	0
Patient 3	1	0	0	0
Patient 4	2	1	0	0
Patient 5	1	1	1	1
Patient 6	1	0	1	0
Patient 7	1	2	0	0
Patient 8	0	1	1	1
Patient 9	1	0	0	1
Patient 10	1	0	1	1
Patient 11	1	3	1	1
Patient 12	0	1	4	0
Patient 13	1	0	1	0
Medianwert:	0,923	0,845	0,769	0,385

Tab. 6: Score für allgemeine Kriterien/Auswertung der KG

Zeitpunkt	Kontrollgruppe	p-Wert	Signifikanz	PRP-Gruppe	p-Wert	Signifikanz
T1 <-> T2	0,923 - 0,845	0,8157	nein	0,765 - 0,706	0,9690	nein
T1 <-> T3	0,923 - 0,769	0,8257	nein	0,765 - 0,294	0,1123	nein
T1 <-> T4	0,923 - 0,385	0,0257	ja	0,765 - 0,353	0,1659	nein
T2 <-> T3	0,923 - 0,845	0,8521	nein	0,706 - 0,294	0,1844	nein
T2 <-> T4	0,845 - 0,385	0,1467	nein	0,706 - 0,353	0,2568	nein
T3 <-> T4	0,769 - 0,385	0,2606	nein	0,294 - 0,353	0,7758	nein

Tab. 7: Statistische Auswertung der allgemeinen Kriterien/Vergleich der Analysezeitpunkte

Zeitpunkt	Kontrollgruppe	PRP-Gruppe	p-Wert	Signifikanz
T1	0,923	0,765	0,6314	nein
T2	0,845	0,706	0,7211	nein
T3	0,769	0,294	0,0654	nein
T4	0,385	0,353	0,8803	nein

Tab. 8: Statistische Auswertung der allgemeinen Kriterien/Vergleich der beiden Gruppen

Analyse 2:

Die statistische Auswertung der **speziellen Kriterien zur Wundheilung** zu den einzelnen Dokumentationszeitpunkten führte zu folgenden Ergebnissen:

Messpunkt 1 (3. Tag postoperativ):

Es gibt bezüglich des Gesamtscores keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (siehe Tab. 9, Abb. 10–12).

Kriterien der speziellen Wundheilung	Median / PRP	Median / KG	p-Wert	Signifikanz
Wundränder inhomogen	2,529	2,154	0,3759	nein
Am Wundrand belassene Epithelstreifen	1,529	2,154	0,1565	nein
Bildung von Epithelinseln	2,765	2,923	0,5479	nein

Tab. 9: Statistische Auswertung der speziellen Wundheilungskriterien am 3. Tag postoperativ

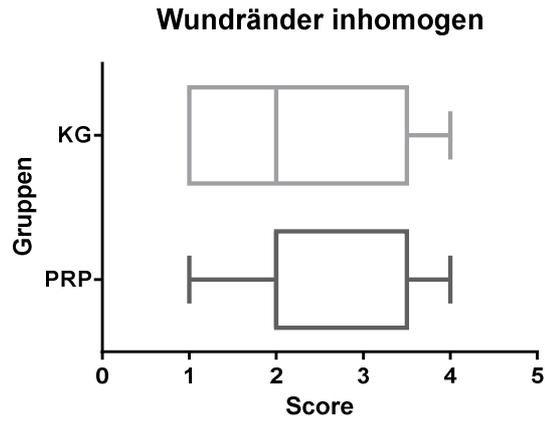


Abb.10: Boxplotdarstellung von: Kriterium der „inhomogenen Wundränder“ (7. Tag postoperativ; 1=nicht vorhanden, 2=leicht vorhanden, 3=mäßig vorhanden, 4=stark vorhanden)

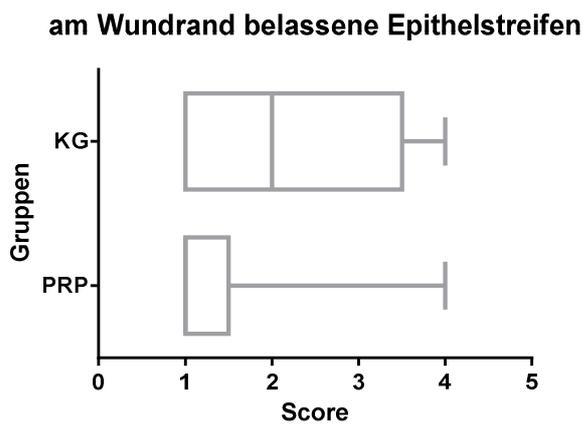


Abb.11: Boxplotdarstellung von Kriterium der „Bildung von Epithelinseln“ (7. Tag postoperativ; 1=nicht vorhanden, 2=leicht vorhanden, 3=mäßig vorhanden, 4=stark vorhanden)

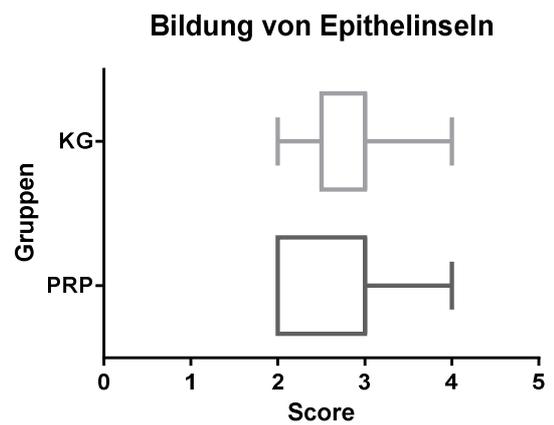


Abb.12: Boxplotdarstellung von Kriterium „am Wundrand belassene Epithelstreifen“ (7. Tag postoperativ; 1=nicht vorhanden, 2=leicht vorhanden, 3=mäßig vorhanden, 4=stark vorhanden)

Messpunkt 2 (7. Tag postoperativ):

Am 7. Tag postoperativ lässt sich für das Kriterium „Schorf“ ein deutlich erhöhter Ausprägungsgrad erkennen. Desweiteren konnte eine vermehrte Bildung von „Granulationsgewebe“ in der PRP-Gruppe beobachtet werden (siehe Tab. 10).

Dies bestätigt das Ergebnis von einem signifikant höheren Vorkommen von „Wundschorf“ und „Granulationsgewebe“ am Tag 7 in der PRP- Gruppe.

Es konnte kein signifikantes Ergebnis bei dem Kriterium „hyperämischer Wundcharakter“ beobachtet werden.

Kriterien der speziellen Wundheilung	Median / PRP	Median / KG	p-Wert	Signifikanz
Hyperämischer Wundcharakter	2,471	2,385	0,8369	nein
Wundschorf	2,471	1,891	0,0434	ja
Granulationsgewebe	2,529	1,903	0,0355	ja

Tab. 10: Statistische Auswertung der speziellen Wundheilungskriterien am 7. Tag postoperativ

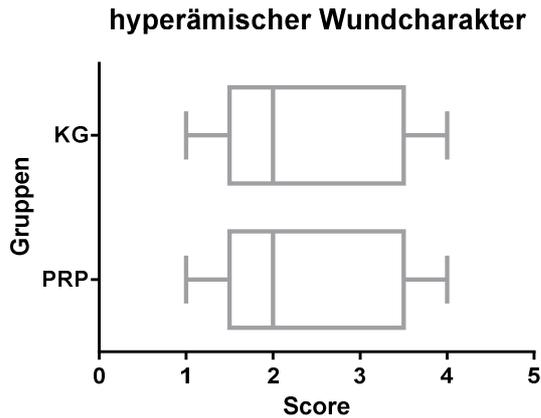


Abb.13: Boxplotdarstellung von Kriterium „hyperämischer Wundcharakter“ (7.Tag postoperativ; 1=nicht vorhanden, 2=leicht vorhanden, 3=mäßig vorhanden, 4=stark vorhanden)

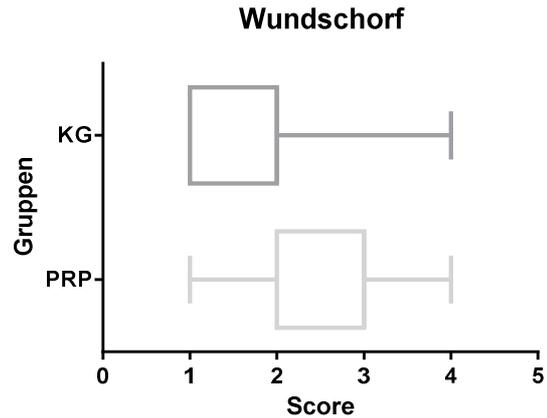


Abb.14: Boxplotdarstellung von Kriterium „Wundschorf“ (7. Tag postoperativ; 1=nicht vorhanden, 2=leicht vorhanden, 3=mäßig vorhanden, 4=stark vorhanden)

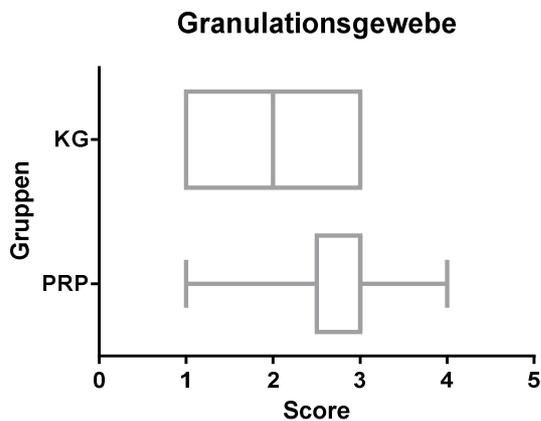


Abb.15: Boxplotdarstellung von Kriterium „Granulationsgewebe“ (7. Tag postoperativ; 1=nicht vorhanden, 2=leicht vorhanden, 3=mäßig vorhanden, 4=stark vorhanden)

Messpunkt 3 (10. Tag postoperativ):

Am Tag 10 postoperativ wird ein verstärktes Vorkommen von „Fibrin“ in der PRP-Gruppe (Ausprägungsgrad 3 und 4) beobachtet. Der Anteil mit ausgeprägten „nekrotischen Anteilen“ war in der PRP-Gruppe am 10. Tag postoperativ signifikant geringer.

Dies bestätigt das Ergebnis von signifikant besseren Ergebnissen in der PRP-Gruppe am Tag 10 bezüglich der Kriterien „Fibrinbelag“ und „nekrotische Wundareale“.

Kriterien der speziellen Wundheilung	Median / PRP	Median / KG	p-Wert	Signifikanz
Fibrinbelag	2,881	2,034	0,0423	ja
Rötung	1,706	2,023	0,1179	nein
Nekrotische Wundanteile	1,769	2,588	0,0482	ja

Tab. 11: Statistische Auswertung der speziellen Wundheilungskriterien am 10. Tag postoperativ

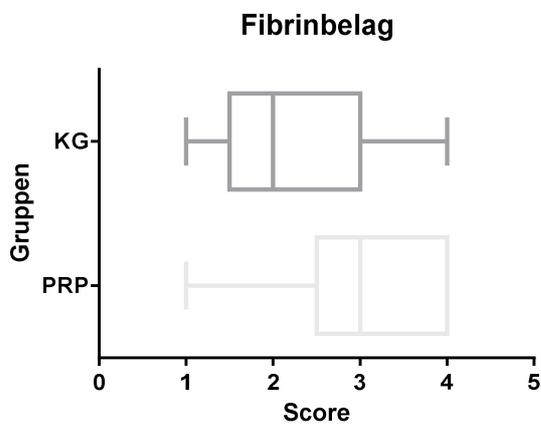


Abb.16: Boxplotdarstellung von Kriterium „Fibrinbelag“, 10.Tag postoperativ (1=nicht vorhanden, 2=leicht vorhanden, 3=mäßig vorhanden, 4=stark vorhanden)

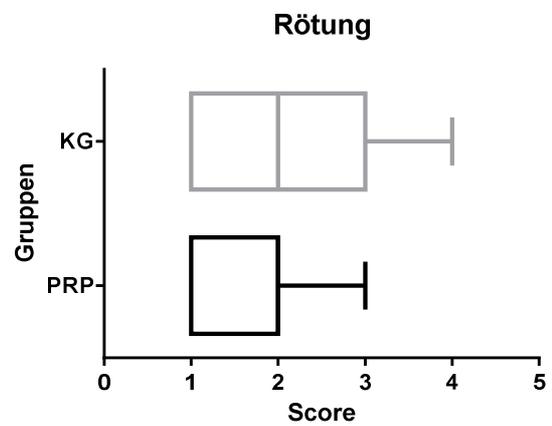


Abb.17: Boxplotdarstellung von Kriterium „Rötung“, 10.Tag postoperativ (1=nicht vorhanden, 2=leicht vorhanden, 3=mäßig vorhanden, 4=stark vorhanden)

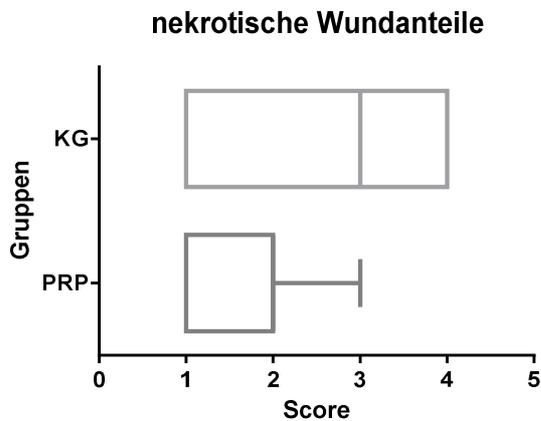


Abb.18: Boxplotdarstellung von Kriterium der „nekrotischen Wundanteile“, 10. Tag postoperativ (1=nicht vorhanden, 2=leicht vorhanden, 3=mäßig vorhanden, 4=stark vorhanden)

Messpunkt 4 (60. Tag postoperativ):

Am Tag 60 gab es keinen signifikanten Unterschied bei den Kriterien „generelle Schrumpfung“, „Keloidbildung“ und „abgeschlossene Wundheilung“ (siehe Tab.12).

Kriterien der speziellen Wundheilung	p-Wert	Signifikanz
Generelle Schrumpfung	0,3602	nein
Keloidbildung	0,1424	nein
Abgeschlossene Wundheilung	0,2457	nein

Tab. 12: Statistische Auswertung der speziellen Wundheilungskriterien am 60. Tag postoperativ

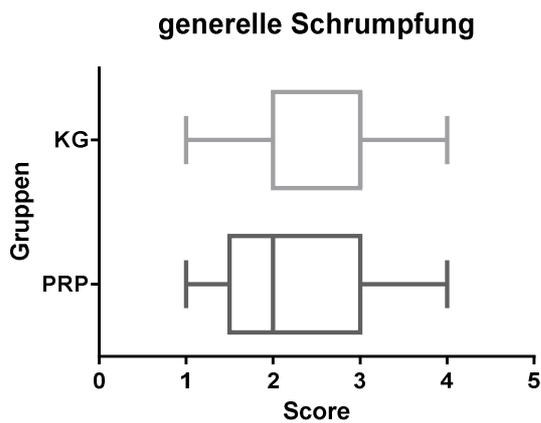


Abb.19: Boxplotdarstellung von Kriterium der „generellen Schrumpfung“, 60.Tag postoperativ (1=nicht vorhanden, 2=leicht vorhanden, 3=mäßig vorhanden, 4=stark vorhanden)

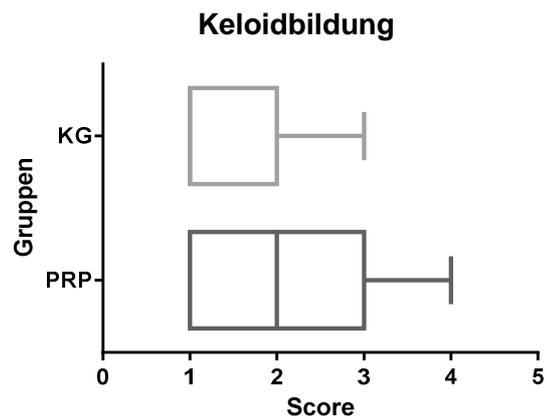


Abb.20: Boxplotdarstellung von Kriterium der „Keloidbildung“, 60.Tag postoperativ (1=nicht vorhanden, 2=leicht vorhanden, 3=mäßig vorhanden, 4=stark vorhanden)

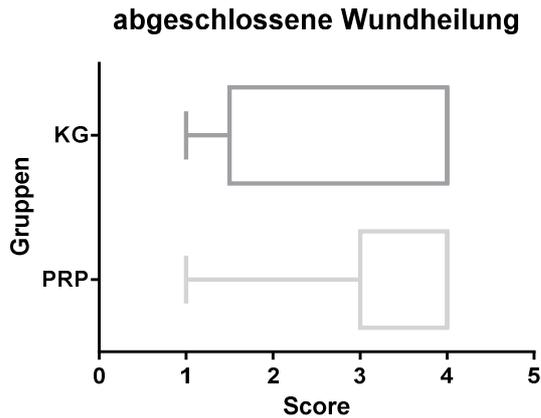


Abb.21: Boxplotdarstellung von Kriterium der „abgeschlossenen Wundheilung“, 60. Tag postoperativ (1=nicht vorhanden, 2=leicht vorhanden, 3=mäßig vorhanden, 4=stark vorhanden)

Analyse 3:

Vancouver Scar Scale

Am Tag 3 zeigt sich ein signifikanter Unterschied im Gesamtscore (Median PRP: 1,6; KG: 2,7; p-Wert = 0,0360). Am 7., 10. und 60. Tag besteht zwischen den Gruppen PRP und KG weder ein signifikanter Unterschied bezüglich des Gesamtscores (p-Wert = 0,4866, p-Wert = 0,7720, p-Wert = 0,3821) noch des Einzelscores (siehe Abb. 22–26).

In den Einzelscores zeigt sich jedoch ein signifikanter Unterschied beim Parameter „Durchblutung“/ „Kolorit“ (Median PRP: 7,4; KG: 6,0; p-Wert = 0,0113) am 60. Tag postoperativ.

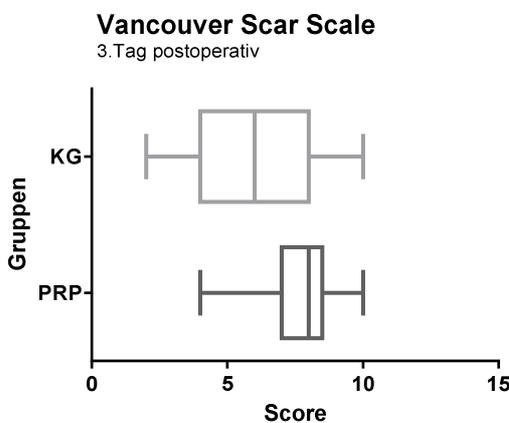


Abb.22: Boxplotdarstellung: VSS; Signifikanz: ja, p=0,0360

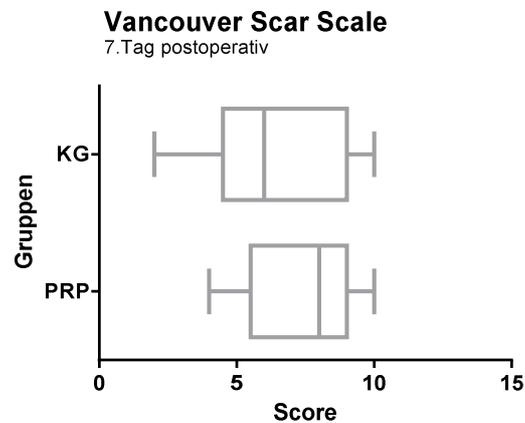


Abb.23:Boxplotdarstellung: VSS; Signifikanz: nein, p=0,4866

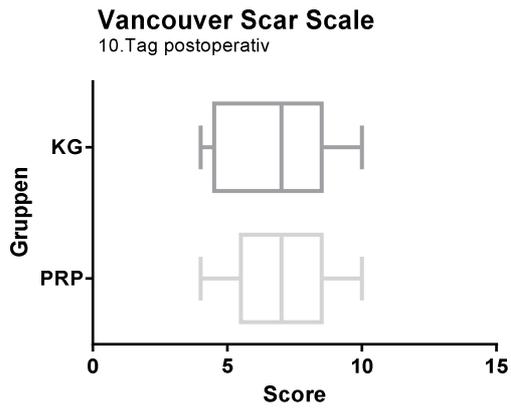


Abb.24: Boxplotdarstellung: VSS; Signifikanz: nein, $p=0,7720$

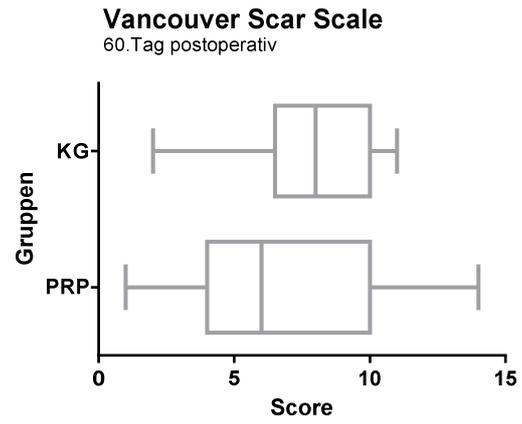


Abb.25: Boxplotdarstellung: VSS; Signifikanz: nein, $p=0,3821$

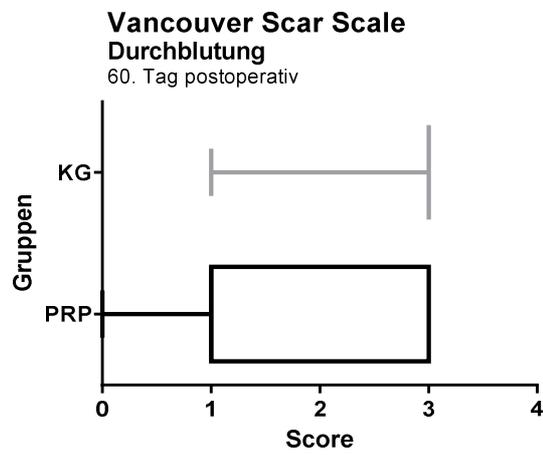


Abb.26: Boxplotdarstellung: VSS;
Signifikanz: ja, $p=0,0113$

3.2 Ergebnisse der morphometrischen Bildanalyse

Die Analyse des prozentualen Anteils der „reaktiven Wundoberfläche“ (Wundoberfläche, die homogen mit Schorf, Granulationsgewebe und Fibrinbelag bedeckt ist) ergab die unten in Abb. 27 beschriebene Verteilung in Prozent:

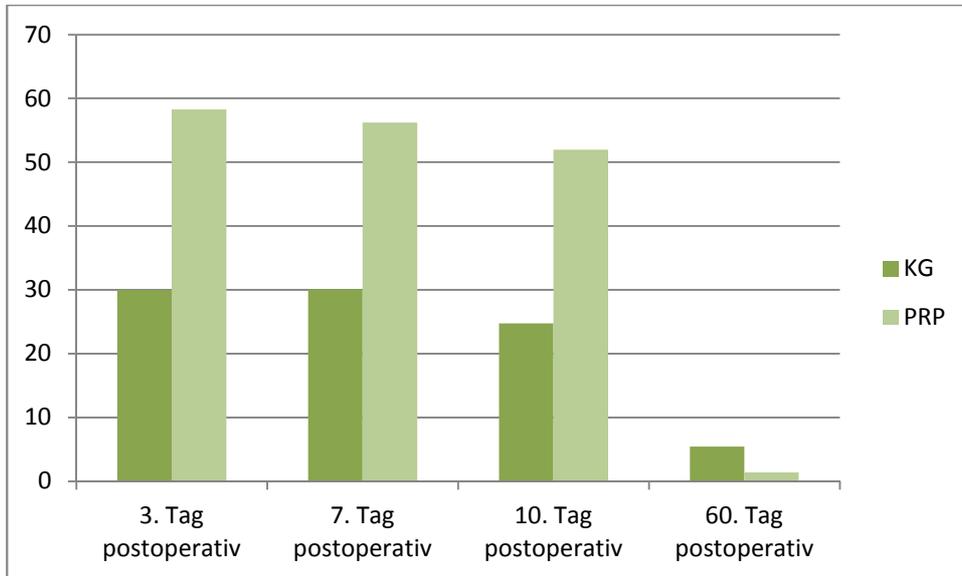


Abb.27: Säulendiagramm von der morphometrischen Bildanalyse: Wundoberfläche, die regulär mit Granulationsgewebe, Fibrinbelag und Schorf bedeckt ist

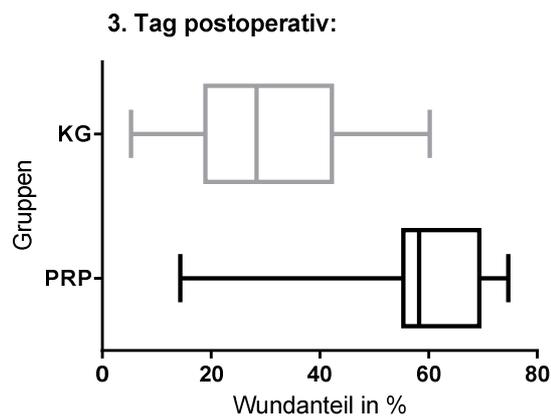


Abb. 28: Boxplotdarstellung von: Wundoberfläche, die regulär mit Granulationsgewebe, Fibrinbelag und Schorf bedeckt ist; Signifikanz: ja: $p = <0,0001$

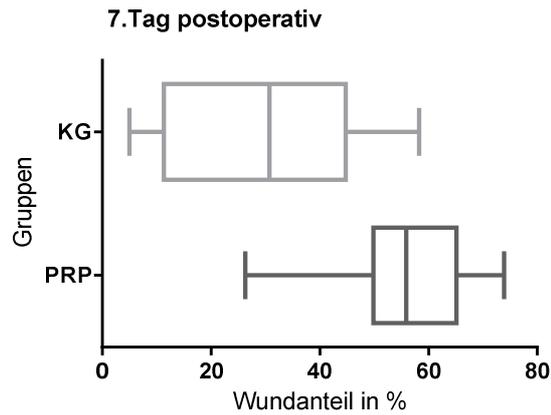


Abb.29: Boxplotdarstellung von: Wundoberfläche, die regulär mit Granulationsgewebe, Fibrinbelag und Schorf bedeckt ist; Signifikanz: ja: $p < 0,0001$

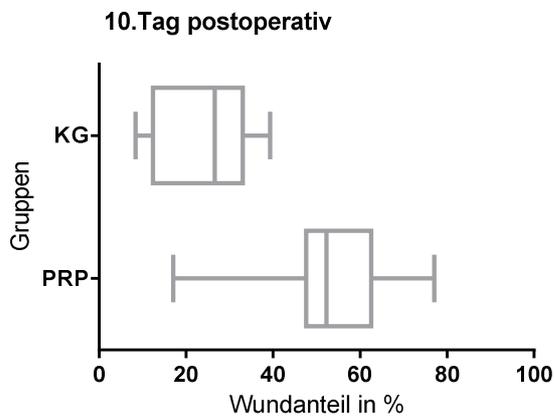


Abb.30: Boxplotdarstellung von: Wundoberfläche, die regulär mit Granulationsgewebe, Fibrinbelag und Schorf bedeckt ist; Signifikanz: ja: $p < 0,0001$

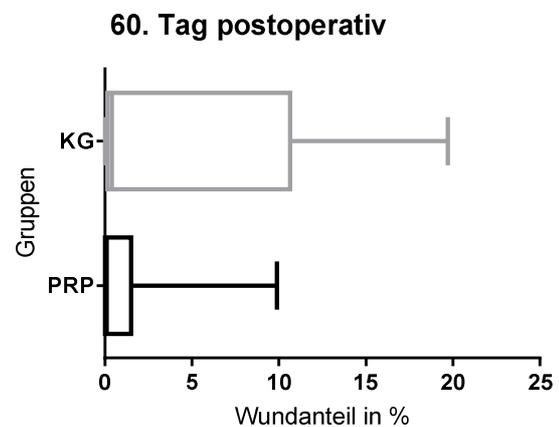


Abb.31: Boxplotdarstellung von: Wundoberfläche, die regulär mit Granulationsgewebe, Fibrinbelag und Schorf bedeckt ist; Signifikanz: ja: $p = 0,0394$

Die durchgeführte morphometrische Bildanalyse ergab an den Tagen 3, 7 und 10 einen signifikant größeren reaktiven Wundflächenanteil (Tag 3, 7, 10: p -Wert $< 0,0001$, siehe Abb. 28–30).

Am 60. Tag postoperativ zeigt die KG einen signifikant höheren Anteil an Wundoberfläche, die mit reaktiven Wundbestandteilen belegt ist (Tag 60: $p = 0,0394$, siehe Abb. 31).

3.3 Ergebnisse der Analyse der Laborparameter

3.3.1 Ergebnisse der Thrombozytenfunktionsanalyse

Bei der Auswertung der Thrombozytenfunktion lagen die Proben der Patienten Nr. 2, 4, 5, 8, 9, 12, 16 im Referenzbereich. Die Proben der Patienten Nr. 1, 10, 11, 13, 14, 15, 17 lagen geringfügig unterhalb des Referenzbereiches – es konnte aber eine ausreichende Thrombozytenfunktion bestätigt werden. Die Patienten Nr. 3, 6, 7 lagen deutlich unterhalb des Referenzbereiches (siehe Tab. 13) aber auch bei diesen Proben kann von einer Restfunktion gesprochen werden.

Patient	Thrombozytenfunktion [AU/min]	Referenzbereich [AU/min (700-1563)] Thrombozytenfunktion der Proben erreicht ja/nein
1	788	ja
2	1176	ja
3	398	nein
4	885	ja
5	802	ja
6	159	nein
7	120	nein
8	1031	ja
9	1107	ja
10	791	ja
11	866	ja
12	972	ja
13	703	ja
14	847	ja
15	739	ja
16	975	ja
17	798	ja
Mittel	774	-

Tab. 13: Analyse der Thrombozytenfunktion [AU/min (941–1563)]; (siehe Müller, C., 2015 „Die Untersuchung der Wundheilung komplexer Wunden am Beispiel von Radialstransplantatentnahmestellen nach Behandlung mit autologen Wachstumsfaktoren.“, unpublished manuscript, MKG, TU-München)

3.3.2 Ergebnisse der Thrombozytenanreicherung

Der im Mittel erzielte Anreicherungsfaktor im PRP lag in dieser Studie bei 4,4 (durchschnittliche Thrombozytenanzahl: 939+ [$10^3/\mu\text{l}$]).

Den höchsten Anreicherungsfaktor wies Patient 5 auf (9,42), den niedrigsten Patient 10 (0,52) (siehe Tab. 14).

Patient	Thrombozyten [$10^3/\mu\text{l}$]	Anreicherung [$10^3/\mu\text{l}$]	Anreicherungsfaktor [-]
1	173	895+	5,17
2	140	612+	4,37
3	359	519+	1,45
4	232	942+	4,06
5	251	2364	9,42
6	164	986+	6,01
7	198	493+	2,49
8	200	1138+	5,69
9	208	959+	4,61
10	197	1026+	0,52
11	157	888+	5,66
12	124	715+	5,77
13	210	930+	4,43
14	450	1551+	3,45
15	163	591+	3,63
16	138	558+	4,04
17	198	798+	4,05
Median	209,5	939+	4,4

Tab. 14: Thrombozytenausgangswert, Anreicherung und Anreicherungsfaktor; dabei steht + für eine Aggregationsbildung, die eine exakte Analysezahl nicht zulässt und nur für einen Mindestwert steht; (siehe Müller, C., 2015 : „Die Untersuchung der Wundheilung komplexer Wunden am Beispiel von Radialistransplantatentnahmestellen nach Behandlung mit autologen Wachstumsfaktoren.“, unpublished manuscript, MKG, TU-München)

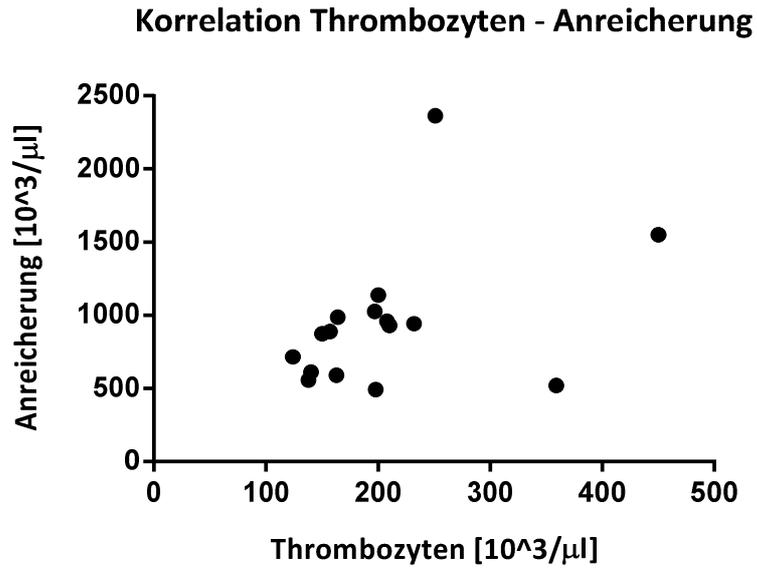


Abb.32: Korrelation Thrombozytenausgangswert – Anreicherung; (siehe Müller, C., 2015 : „Die Untersuchung der Wundheilung komplexer Wunden am Beispiel von Radialistransplantatentnahmestellen nach Behandlung mit autologen Wachstumsfaktoren.“, unpublished manuscript, MKG, TU-München)

Es besteht kein linearer Zusammenhang zwischen dem Thrombozytenausgangswert und dem Anreicherungsfaktor (siehe Abb. 32). Es kann somit gezeigt werden, dass ein hoher Ausgangswert nicht automatisch zu einer hohen Anreicherung führt.

4 Diskussion

Viele Studien und Forschungsarbeiten haben sich in den letzten Jahren mit dem Einsatz von „platelet rich plasma“ in den verschiedensten Fachgebieten und Zielregionen zur Verbesserung der Wundheilung beschäftigt. Die Ergebnisse waren indifferent und wiesen große methodische Unterschiede auf.

Im Rahmen der Wundheilung ist PRP bei der Therapie von Weichgewebsdefekten (Rozman, P. et al., 2007, S.156), bei Knochenrekonstruktionen (Wrotniak, M. et al., 2007, S.227), in der Traumatologie (Frei, R. et al., 2008, S.247), bei Sportverletzungen (Creaney, L. et al., 2008, S.314), bei plastischen Defekten (Eppley, B.L. et al., 2006, S.147) sowie in der Transplantations- und Transfusionsmedizin (Everts, P.A. et al., 2006, S.174) ein wichtiger Bestandteil geworden. Die meisten dieser Studien erheben den Anspruch, einen groben Überblick über die Wirksamkeit von PRP zu geben. Bei genauer Analyse der verschiedenen Verfahren und Studien fällt aber auf, dass vor allem die Herstellung des PRP sowie die Höhe der Thrombozytenanreicherung erheblich variieren.

Ein vielversprechender Einsatz von PRP erfolgte zunächst bei der Behandlung von chronischen Ulkuserkrankungen. Ein chronischer Ulkus, der bei Erkrankungen wie Diabetes mellitus oder der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit klinisch in Erscheinung treten kann, ist durch eine schlechte Trophik des Gewebes, durch pathologisch veränderte Mikrogefäße und einer schlechten Durchblutung gekennzeichnet. Durch die Behandlung dieser chronischen Weichgewebskrankung mit PRP versprach man sich v.a. eine positive Stimulation auf die Neovaskularisierung, die zu einer Beschleunigung der Wunddeckung und Verbesserung der Wundheilung führen sollte. Beide Annahmen konnten in den Studien bestätigt werden und trugen dazu bei, dass sich das Behandlungsspektrum von PRP erweitern konnte (Knox, R.L. et al., 2006, S.260).

Ein weiterer Einsatz von PRP erfolgte in der ZMK. Beispielsweise bei der Parodontaltherapie (Soffer, E. et al., 2003, S.521); (Kamoi, K. et al., 2006, S.76), bei der Extraktionstherapie (Sammartino, G. et al., 2005, S.766) und der Implantologie (Plachokova, A.S. et al., 2008, S.539). Ziel war es bei diesen Studien die Heilung von großen Knochen- und Weichgewebsdefekten (Garofalo, G.S., 2007, S.373) zu optimieren.

Es kann im Rahmen einer Parodontaltherapie bei der Behandlung schwerwiegender und großer parodontaler Defekte eine sog. offene Parodontosebehandlung notwendig werden. Dabei wird nach dem chirurgischen Öffnen der betroffenen parodontalen Tasche in den Knochendefekt ein Knochenersatzmaterial eingebracht, das dem regenerierenden Knochen als „Leitschiene“ dienen soll. Es kann dabei in bestimmten Fällen auch über das Einbringen von Membranen auf oder unter den Defekt nachgedacht werden um das Einwachsen von umliegendem Weichgewebe zu verhindern. Bei dieser Behandlung konnte gezeigt werden, dass die Anwendung von PRP mit den darin enthaltenen Wachstumsfaktoren PDGF, TGF, IGF und EGF mit einer beschleunigten Wundheilung und Knochenregeneration und somit einer verbesserten parodontalen Situation einhergeht (Kamoi, K. et al., 2006, S.76).

Ein weiteres Verfahren in der ZMK stellt die Guided Bone Regeneration oder weitere augmentative Verfahren dar, bei denen man sich durch Beimischen von PRP verbesserte und optimierte Ergebnisse erhofft. Augmentative Verfahren werden dabei durch eine häufig auftretende Atrophie des Alveolarknochens nach einer Zahnextraktion notwendig, bei der sich das für eine Implantation zur Verfügung stehende Knochenangebot um bis zu 60 % verringern kann (Fürst, 2003, S. 825).

Um eine Verbesserung des Knochenangebotes im Oberkiefer und eine sichere Insertion eines dentalen Implantates zu garantieren, hat sich auch die Sinusbodenelevation inzwischen als Standardtherapie durchgesetzt. Dabei wird durch das Einbringen von Knochenersatzmaterial, Eigenknochen oder einer Mischung aus beidem unterhalb der Kieferhöhlenschleimhaut auf den Boden des Sinus maxillaris ein vertikaler Knochenaufbau im Bereich des Alveolarkamms erreicht. Die Datenlage zu diesen Studien bei Sinusbodenelevationen ist heterogen und uneinheitlich. Es konnte eine Beimischung von PRP nur bei solchen Behandlungskonzepten Erfolg zeigen, bei denen PRP in Kombination mit Zielzellen, also mit autologem Knochen eingebracht wurden (Fürst, 2003, S. 825). So zeigte das neu entstandene Gewebe eine deutlich stärkere Anhaftungstendenz an die Restbestandteile des Augmentates sowie eine Struktur aus reiferem Geflechtknochen als in der Kontrollgruppe. Es erfolgte außerdem eine schnellere Umwandlung von Geflecht- in Lamellenknochen, wodurch eine höhere Knochendichte sowie -qualität und damit eine höhere Stabilität für das Implantat

nachgewiesen werden konnte (Bauer, F. et al., 2005, S. 62–65). In ähnlichen Studien konnte eine vollständige, unauffällige sowie gute Wundheilung ohne Infektionen und Verlust des Implantates auch ohne das Beimischen von autologem Knochen mit Zielzellen verzeichnet werden (Kasten, P. et al., 2006, S.68); (Lindeboom, J.A. et al., 2007, S.133). Aufgrund dieser erfolgreichen Ergebnisse hat sich PRP in der Behandlung von Sinusbodenelevationen bewährt und ist in vielen Fällen fester Bestandteil der Therapie (Bauer, F. et al., 2005, S. 62–65).

Fürst et al. konnten in Ihrer Studie am Minischwein zeigen, dass bei der Implantation von 4 mm langen Implantaten am Os frontale ausschließlich die Kombination von autologen Knochentransplantaten mit PRP eine Steigerung des Mineralisationsgrades um 30 % brachte. Die Behandlung nur mit PRP erbrachte keine signifikante Verbesserung (Fürst, 2003, S.825).

Ein deutlich positiver Effekt von PRP bei der Osseointegration von Titanimplantaten im maxillo-mandibulären Bereich lässt sich ebenfalls bei den Studien von Weibrich et al. erkennen. Dabei beeinflussten überwiegend die Wachstumsfaktoren PDGF und TGF- β die Knochenregeneration bzw. -integration. Sie wirken auf zellulärer Ebene insbesondere auf die Proliferation, Zelldifferenzierung und Aktivierung von Chemotaxis und nehmen dabei Einfluss auf die Aktivierung der Wundheilungskaskade (Tozum, T.F. et al., 2003, S.664).

Wissenschaftlich lässt sich der positive Effekt von PRP auf die Wundheilung oftmals belegen. Es ist jedoch weiterhin umstritten, welchen Einfluss die richtige Anreicherung und Applikationsart auf die Wundheilung hat (Aghaloo, T.L. et al., 2004, S.59); (Knox, R.L. et al., 2006, S.260); (Krasna, M. et al., 2007, S.105); (Lee, C.Y. et al., 2007, S.371); (Rozman, P. et al., 2007, S.156); (Pietramaggiori, G. et al., 2008, S.218).

Diese Wirksamkeit des PRP korreliert einigen Studien zufolge stark mit der Anreicherung des PRP. Einige Studien behaupten, je höher die Konzentration von Thrombozyten im PRP ist, desto positiver sei die Wirkung auf den Verlauf der Wundheilung und auf die Knochenregeneration (Soffer, E. et al., 2003, S.521). Dies würde die Annahme unterstützen, dass die Menge der Thrombozyten mit der Menge der Wachstumsfaktoren korreliert, die wiederum einen positiven Einfluss auf die Wundheilung nehmen könnten.

Relativiert werden diese Ergebnisse von Arbeiten, die eine zwei- bis dreifache Anreicherung für die Behandlung von PRP im Zusammenhang mit humanen Zellen als sinnvoll und ausreichend darstellen. Eine höhere Anreicherung scheint keinen zusätzlichen Nutzen zu haben. Es wird sogar bei Anreicherungsfaktoren über 5 eine inhibitorische Wirkung auf die Wundheilung beschrieben. Diese Ergebnisse wurden bei Versuchen mit oder ohne Verwendung von ossären Zellen erbracht (Weibrich, G. et al., 2004, S. 665). Als mögliche Ursache für diese inhibitorischen Effekte auf die Zielzellen beschreiben die Forscher ein zu hoch konzentriertes PRP.

In der vorliegenden Studie die sich ausschließlich mit Weichgewebsdefekten beschäftigt, wurde ein durchschnittlicher Anreicherungsfaktor von 4,4 erreicht. Dies liegt im absoluten Durchschnitt der in der Fachliteratur verwendeten Anreicherungen und spricht für eine ausreichende Anreicherung und Aktivierbarkeit der Thrombozyten.

Um einen verbesserten postoperativen Wundheilungsverlauf bei Spalthautentnahmestellen zu erreichen, gibt es zahlreiche Studien und Methoden zur Optimierung der Wundbehandlung bzw. des Wundverbandes. Es stehen dabei meist die Wirtschaftlichkeit der Wundversorgung und die verbesserte Patientenzufriedenheit durch die Optimierung der Wundheilung sowie die Reduktion an Wundheilungsstörungen im Vordergrund. Nicht geschlossene Epitheldecken, hypertrophe und immobile Narbenanteile sowie Wundinfektionen werden in den Studien bei der Behandlung von Spalthautentnahmestellen immer wieder beschrieben (Wu, C. C. et al., 2015, S. 21; Takabayashi, Y. et al., 2015, S. 83).

Polyurethanschaumverbände, wie das in dieser Studie verwendete Mepilex®-Pflaster (Mölnlycke Healthcare, Erkrath-Untersfeldhaus), Hydrokolloidverbände, Wundauflagen, wie Cuticell® (BSN medical, Hamburg), Epigraft-Kompressen oder beschichtete Silikonauflagen haben sich in der Wundbehandlung bewährt und können zu einem optimierten oder verkürzten Wundheilungszeitraum beitragen (Jones, V. et al., 2006, S. 777).

Eine Studie, die sich nur mit der optimalen Wundaufgabe bzw. -versorgung von Spalthautentnahmestellen beschäftigte, konnte die besten Ergebnisse in Hinblick auf Anwendung, Auflage (Reduzierung von Schmerzen durch verminderte Wundmanipulation) und angemessene Kosten bei der Versorgung der Wunden mit Hydrokolloidpflaster (Alginaten) erreichen (Caliot, J. et al., 2014, S. 47). Bei dem in

dieser Studie verwendeten Verbandmaterial handelte es sich um einen weichen Polyurethan- Schaumverband (Mepilex ®). Dieser hat sich im klinischen Alltag zur Versorgung oberflächlicher, leicht bis mittelstark exsudierender Wunden wie Spalthautentnahmestellen bewährt. Dieser Eindruck konnte auch in der vorliegenden Studie v.a. durch das signifikant vermehrte Aufkommen von Fibrin und Granulationsgewebe auf der Wundoberfläche bei allen Dokumentationszeitpunkten sowie einem in den meisten Fällen stabilen und geschlossenen Epithel während des gesamten Verbandwechsels bestätigt werden. Die Versorgung mit Mepilex ®-Pflastern konnte die Wundirritationen, die beim Verbandwechsel oftmals durch hohe mechanische Belastungen hervorgerufen werden, so gering wie möglich halten. Dafür spricht auch das signifikant erhöhte Aufkommen von Granulationsgewebe und Fibrinbelag am 7. und 10. Tag postoperativ. Interessant für weitere Untersuchungen wäre die Möglichkeit einer sukzessiven Abgabe von Wachstumsfaktoren durch den wechselnden Wundverband um die Wirkungsdauer der WF zeitlich nicht zu limitieren und die Wirkung über die gesamte Wundheilungsphase zu garantieren. Zu untersuchen wäre dabei ob sich auch unter diesen Bedingungen die Wirkung der WF v.a. auf die initiale Phase der Wundheilung konzentriert.

Alternativ dazu geht die Forschung zur Verbesserung der Versorgung von Spalthautentnahmestellen in die Richtung von sog. Drug-Delivery-Systemen und der Applikation von künstlichen und autologen WF und/oder sog. Fibrinmikropartikeln. Dabei versteht man unter Drug-Delivery-Systemen die gezielte Arzneimittelabgabe mittels verschiedener Techniken und Systemen. Diese sollen den gesicherten Transport eines Arzneimittels im Körper und damit auch seine gewünschte therapeutische Wirkung gewährleisten. Die Produktentwicklung wird dabei laut Kremer et al. aus einer Kombination von autologen Haut- und Bindegewebszellen mit sog. dermisanalogen Matrices bestehen, die mit einer simultanen Applikation von WF eine deutliche Beschleunigung der Wundheilung ermöglichen werden (Kremer, M. et al., 2000, S. 1222). Dabei könnte sich PRP, der ein körpereigener und kostengünstiger Stoff ist, als WF-Lieferant bewähren. Im Gegensatz zu anderen applizierten Wirkstoffen und künstlichen Wachstumsfaktoren kann PRP aus immunologischer Sicht völlig bedenkenlos angewendet werden. Zu den künstlich applizierten Stoffen wird auch die Anwendung von AMD (Antimicrobial-impregnated kann dressing) mit oder ohne Kombination einer Vakuumtherapie (negativ-pressure wound therapy) gezählt. Diese Behandlung mit AMD, bestehend aus 0,2 %

Polyhexamethylen Biguanid, zeigt einen signifikant verbesserten Wundheilungsverlauf bei chronischen oder kontaminierten Wunden (Wu, C. C., 2015, S. 21).

Komplikationen, wie Immunreaktionen und Infektionen, werden bei der Therapie mit dem körpereigenen PRP bisher nicht beschrieben (Kamoi, K. et al., 2006, S.76). Dies stellt im Vergleich zu einer Wundbehandlung mit artfremden WF einen erheblichen Vorteil dar, da diese in der Wissenschaft aufgrund bekannter immunologischer Nebenwirkungen kritisch diskutiert werden. Biotechnologische Verfahren zur Entwicklung von Eigenknochen mittels Stammzellen oder Botenstoffen, wie das sog. Bone Morphogenetic Protein, sind wiederum mit hohen Kosten verbunden und deren Erfolge bisher nur wenig belegt (Ali, I. H. et al., 2014, S. 13).

4.1 Klinische Wundheilungsanalyse

Analyse 1

Die Auswertung der **allgemeinen Kriterien** ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen sowie zwischen den einzelnen Analysezeitpunkten.

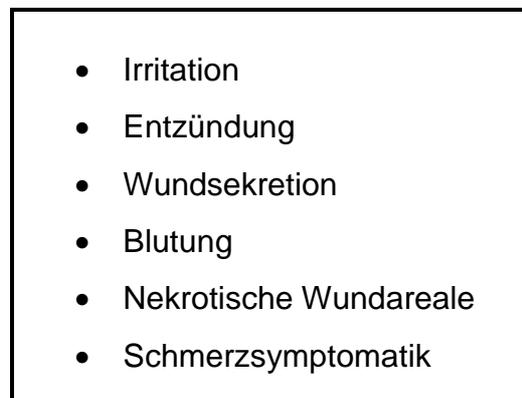
- 
- Irritation
 - Entzündung
 - Wundsekretion
 - Blutung
 - Nekrotische Wundareale
 - Schmerzsymptomatik

Abb. 2: Score der allgemeinen Kriterien

Kurze klinische Beurteilungen der Wundflächen sowie die ja/nein-Entscheidung führten zu keinen merklichen Unterschieden für die beschriebenen Kriterien zwischen der PRP-Gruppe und der KG-Gruppe.

Weder zwischen den Gruppen noch zwischen den einzelnen Analysezeitpunkten konnte eine differenzierte Aussage über Unterschiede in der Wundheilung sowie über

die Wundheilungsgeschwindigkeit getroffen werden. Reine ja/nein Entscheidungen erwiesen sich als zu undifferenziert, um solch komplexe Vorgänge wie die Wundheilung zu beschreiben. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit auf ein graduelles System zurückgegriffen und es wurden spezielle Kriterien zur Beschreibung der komplexen Wundheilungsvorgänge erarbeitet und mit einem individuellen Score, angelehnt an den Vancouver Scar Scale, beurteilt.

Aufgrund der postoperativen Einnahme von Analgetika war die Klinik bzw. die Schmerzsymptomatik im Bereich der Spalthautentnahmestelle für die Patienten nur deutlich eingeschränkt beurteilbar. Es muss auch davon ausgegangen werden, dass die schwere Grunderkrankung sowie die langwierige Regeneration der Patienten von der Operation des Tumors zu einer Einschränkung in Ihrer Schmerzbeurteilung führten. Die Spalthautentnahmestellen stellten auch im Vergleich zu den plastisch-rekonstruktiven Behandlungen im Gesicht der Patienten eine viel kleinere Wundfläche dar, die im Bereich des Oberschenkels die Aufmerksamkeit der Patienten weitaus weniger in Anspruch genommen hat.

Analyse 2

Beurteilung der speziellen Kriterien:

Im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigt sich in der PRP-Gruppe eine erhöhte Bildung von Schorf und Granulationsgewebe am 7. Tag postoperativ, ein verstärktes Aufkommen von Fibrin auf der Wundoberfläche und ein größerer Anteil an reaktiver Wundoberfläche am 10. Tag postoperativ. Diese Beobachtung lässt die Vermutung zu, dass bei der Behandlung mit PRP eine erhöhte Konzentration von WF im Bereich der Wundoberfläche vorliegt. Auch ein signifikant geringerer Anteil von Wundnekrosen am 7. und 10. Tag postoperativ spricht für eine deutliche Verbesserung des Wundheilungsprozesses in der PRP-Gruppe. Dabei kann angenommen werden, dass durch ein erhöhtes Aufkommen von Wachstumsfaktoren Zielzellen, wie z. B. Granulozyten und Makrophagen, schneller angelockt werden und die Proliferation von Endothelien und Fibroblasten sowie die Beseitigung nekrotischer Zellen beschleunigt werden. Diese Hypothese wäre mit einer histologischen Probe der Spalthautentnahmestelle leicht beweisbar. Es wäre dem Patienten jedoch weder zumutbar noch aus medizinischer Sicht sinnvoll.

Eine Studie, die die Wundheilung von Spalthautentnahmestellen bei Ratten nach der Behandlung mit PRP untersuchte, konnte eine signifikant verbesserte Wundheilung durch eine verbesserte Epithelialisierung und Angiogenese im Bereich der Entnahmestelle zeigen. Diese Optimierung wurde auf die im PRP beinhalteten Wachstumsfaktoren und Fragmin-Protamin Mikro Nanopartikel (F-P M-NPs) zurückgeführt (Takabayashi, Y. et al., 2015, S. 83).

Am 60. Tag postoperativ war der Anteil der abgeheilten Wundoberfläche mit einem der gesunden Haut entsprechenden Kolorit in der PRP-Gruppe signifikant höher als in der KG.

Des Weiteren wurde ein deutlicher Rückgang der durch verstärkte Verhornung, Hautatrophie und verminderte Durchblutung dunkelrot-lila kolorierten Narbenareale festgestellt („irreguläre“ Wundheilung). Dies deutet auf eine erhöhte Konzentration von WF und auf eine damit verbundenen Optimierung der Wundheilungskaskade und Neovaskularisierung im Rahmen der PRP-Behandlung hin. Diese Ergebnisse konnten in vielen anderen Studien, in denen nur eine Beschleunigung der Wundheilung durch PRP beschrieben wird und keine verbesserten Ergebnisse der Narbenstruktur festgestellt wurden, nicht bestätigt werden (Kremer, M. et al., 2000, S. 1222; (Soffer, E. et al., 2003, S.521).

Die Wirkung der auf die Wundfläche aufgetragenen Wachstumsfaktoren ist zeitlich limitiert. Aktivierte Thrombozyten sezernieren bis zu 9 Tage lang weiter WF. Die weitere Produktion von WF wird im späteren Verlauf der Wundheilung von Makrophagen übernommen (Tabayashi, Y. et al., 2015, S.83). Die positiven Ergebnisse nach abgeschlossener Wundheilung auf die abgeheilten Narbenstrukturen am 60. Tag postoperativ können also nur durch eine initial positive Wirkung der Wachstumsfaktoren sowie einer Beschleunigung in der initialen Phase der Wundheilung erklärt werden.

Analyse 3

Beurteilung der Ergebnisse des Vancouver Scar Scale:

Durch den modifizierten VSS-Score konnte auf die Durchblutung und auf die postoperative Narbenbildung eingegangen werden.

Am 3. Tag postoperativ zeigte sich dabei ein deutlich erhöhter Gesamtscore des VSS in der PRP-Gruppe. Dies kann aufgrund der beinhalteten Kriterien, wie

Pigmentierung, Dehnbarkeit, Höhe und Durchblutung, im Sinne eines schnelleren Verlaufs bzw. Beginns der initialen Wundheilung interpretiert werden.

Keine Verbesserung konnte am 7. und 10. Tag postoperativ bei der Durchblutung der Wundbereiche in beiden Gruppen festgestellt werden.

Wie auch schon in der Analyse 2 konnte am 60. Tag postoperativ ein signifikant verbessertes Narbenkolorit der behandelten Wundoberfläche in der mit PRP behandelten Patientengruppe dokumentiert werden.

Ein vermehrtes Vorkommen regelgerechter Hautfarben abgeheilter Narbenstrukturen in der PRP-Gruppe zeigt eine erfolgreiche Reepithelialisierung und eine gute Umwandlung dieser Oberflächenstrukturen in ein dichtes bindegewebeartiges Narbengewebe bzw. in eine regelgerechte Hautoberfläche in der PRP-Gruppe. Auch dieses Ergebnis ist mit einer erhöhten Konzentration von WF im Rahmen der PRP-Behandlung vereinbar. Der Erfolg der Behandlung lässt sich auch hier wieder erst nach abgeschlossenem Wundheilungsverlauf beurteilen, was für die positive Wirkung der WF in der initialen Phase der Wundheilung spricht. In der Literatur konnten diese Annahmen bereits bestätigt werden. So wurde in einer Studie, in der Gewebeproben als histologische Präparate unter dem Mikroskop auf die Wirkung von PRP auf Weichgewebsdefekte untersucht wurden, bei gleicher Anreicherung eine signifikant schnellere Epithelialisierung und Gefäßeinsprossung in den ersten Wochen erreicht werden (Lindeboom, J. A. et al., 2007, S. 133). Auch bei der intradermalen Injektion von PRP in Spalthautentnahmestellen bei Ratten ergab sich eine bessere und vor allem schnellere Epithelialisierung und Angiogenese durch die im PRP beinhalteten WF und F-P M-NPs, welche diesen wundheilungsfördernden Prozess signifikant unterstützten (Takabayashi, Y. et al., 2015, S. 83).

Es kann also eine schnellere Epithelialisierung und Angiogenese in den ersten Wochen der Wundheilung durch eine Behandlung mit PRP angenommen werden. Diese initiale Behandlung nimmt aber dann auch im späteren Verlauf der Wundheilung großen Einfluss auf eine klar verbesserte Umwandlung in ein dichtes, bindegewebsartiges Narbengewebe. Es konnte also eine weiter fortgeschrittene und schnellere Narbenreifung bei der Behandlung mit PRP festgestellt werden. Interessant wäre es diesen Prozess der Narbenreifung weiter zu verfolgen und die Narbenoberfläche nochmals nach etwa 100 Tagen zu untersuchen und zu vergleichen.

4.2 Morphometrische Bildanalyse

Diese Analyse stellte eine quantitative Beurteilung der Wundheilung zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten dar, um den individuellen Stand der Wundheilung in den beiden Gruppen vergleichen zu können.

Bei der Beurteilung der Wundoberfläche mittels Morphometrie handelt es sich um eine materialunterstützte Methode. Diese kommt von allen in dieser Studie verwendeten Methoden einer objektiven Beurteilung der Wunde am nächsten.

Signifikante Ergebnisse konnten zu allen vier Dokumentationszeitpunkten erzielt werden. Die elektronisch gemessenen Werte entsprechen einer Zunahme an Granulationsgewebe, Schorf und Fibrinbelag am 3., 7. und 10. Tag postoperativ. Dies lässt auf eine verbesserte und komplikationsfreiere Wundheilung in der PRP-Gruppe schließen. Erstaunlich ist, dass gegenüber dem VSS nur in der Anfangsphase dieser Studie ein Unterschied bewertet werden konnte. Dies mag an den erhobenen Kriterien oder an dem subjektiven Empfinden des Behandlers liegen.

Am Nachsorgetermin (60. Tag postoperativ) ist ein geringerer Anteil an Granulationsgewebe, Fibrinbelag und Schorf mit einem reduzierten Anteil an Wundheilungsstörungen in der PRP-Gruppe gleichzusetzen. Dabei wiesen 14 von 17 Patienten in der PRP-Gruppe (82 %) und 6 von 13 Patienten in der KG (46 %) eine vollständig bedeckte Spalthautentnahmestelle auf.

Ein Grund für die positiven Ergebnisse könnte der signifikant erhöhte Anteil an Fibrin auf der Wundoberfläche sein. Fibrin stellt für die Wundheilung einen wichtigen Bestandteil der reaktiven Wundoberfläche dar. Dabei führt die Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin bei der Bildung eines gewünschten Wundschorfes zum erfolgreichen Verlauf der Wundheilung. Es wurde in Studien die Höhe der Fibrinogenkonzentration als Indikator für die Heilungseffizienz gesetzt und dokumentiert, dass Geschwindigkeit und Ausmaß des Wundverschlusses durch diese Konzentration determiniert werden (Soffer, E. et al., 2003, S. 521).

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass sich durch eine Behandlung der untersuchten Wundoberflächen mit PRP bessere Bedingungen für die physiologisch ablaufende Wundheilung an den Tagen 3, 7 und 10 postoperativ schaffen lassen und sich gleichzeitig eine deutliche Reduktion von Wundheilungsstörungen am Tag 60 postoperativ zeigt.

Das in dieser Studie verwendete Bildbearbeitungsprogramm ImageJ stellt ein freies Programm mit leistungsstarken Tools mit einfacher Bedienung dar. Es ist mittlerweile eine bewährte Methode zur Histomorphometrie in Bildern oder Bewegtbildern, in denen Zellen separiert, gezählt und bearbeitet werden sollen. Bei der Analyse von angefärbten Zellen bzw. Strukturen in histologischen Schnittbildern wird das Programm schon seit einiger Zeit erfolgreich angewendet (Trabuco, J. R. et al, 2015, S. 143–72; Beier, J. et al., 2007, S. 860–866). In den meisten Fällen soll die maximale Menge und/oder die größte bzw. kleinste Fläche ermittelt werden. Dies stellt jedoch durch die arbiträre Einstellung der Schwellenwerte für jedes Bild auch eine mögliche Fehlerquelle dar und ist somit auch semiobjektiv. Durch die Anwendung spezieller morphologischer Bildfilter, wie ImageJ, kann aber auch eine signifikante Verminderung von Strukturartefakten in den auszuwertenden histologischen Proben erzielt und somit eine verbesserte strukturelle Segmentierung erreicht werden (Beier, J. et al., 2007, S. 860–866).

4.3 Analyse der Laborparameter

4.3.1 Bestimmung der Thrombozytenfunktion

Bei dem in dieser Studie durchgeführten Trap-Test wird der Anstieg des Wechselspannungswiderstandes nach einer Aktivierung der Thrombozyten als sog. „Fläche unter der Aggregationskurve“ (AUC) mit der Einheit AU/min ermittelt. Es handelt sich dabei also um eine Zunahme des Widerstandes pro Minute. Die Aktivierung der Thrombozyten erfolgt dabei mit dem TRAP-6 Peptid, welches die Bindung von Thrombin an die Thrombin-Rezeptoren der Thrombozyten imitiert und zu einer starken Aktivierung der Thrombozyten führt, wodurch die Notwendigkeit einer Verstärkung durch die Cyclooxygenase entfällt. Es wird ein Ergebnis erzielt, das die sog. „prinzipielle Stimulierbarkeit der Thrombozyten“ beschreibt und sensitiv auf verschiedenste Antikoagulanzen, wie ASS, Clopidogrel, GPIIb/IIIa, reagiert. Der Referenzbereich und die Zielwerte liegen bei 941–1.563 AU/min (Toth, O. et al., 2006). Die Überprüfung der physiologischen Thrombozytenfunktion ist notwendig, um die Aktivierbarkeit und die Ausschüttung von WFs sicherstellen zu können. Um dies zu erreichen, muss der gemessene Wert der Proben im Referenzbereich liegen. Die durchgeführte Analyse diente dem Ausschluss von vorliegenden Thrombozytenfunktionsstörungen oder anderen Störfaktoren und wurde nicht weiter

statistisch bewertet. Wichtig war für diese Studie den Nachweis einer Aggregation und der damit einhergehenden Freisetzung von WF erbringen zu können.

Die Messungen ergaben eine Aktivierung der Thrombozyten, die unabhängig von der Ausgangszahl der Thrombozyten und des Anreicherungsfaktors des PRP zu sein scheint. Es lagen 5 von 17 Proben im Richtwertbereich von 941–1.563 AU*min und 6 von 17 Proben knapp unter diesem Zielwert. Bei den Patienten 3, 6 und 7 konnte nur ein geringer Aktivierungsbefund ermittelt werden. Obwohl die Proben der Patienten 13 und 15 noch deutlicher vom Referenzbereich abweichen, zeigen sie eine sog. Restfunktion. Der Referenzbereich war für diese Studie klinisch nicht relevant, da die Dauer der Aktivierung zweitrangig war – es ging lediglich um eine ja/nein Entscheidung. Daraus lässt sich die Fähigkeit zur Aktivierung der verwendeten Thrombozyten bei allen Proben verifizieren. Es lässt sich bestätigen, dass trotz Anreicherung, Aggregation und Präparation der Thrombozyten eine Funktion der Thrombozyten im PRP gewährleistet ist.

Die Indikation zur Bestimmung der Thrombozytenfunktion ergibt sich in dieser Studie aus zwei bedeutsamen klinischen Fragestellungen:

- dem notwendigen Ausschluss einer medikamentösen Thrombozytenaggregationshemmung bei der OP-Vorbereitung;
- dem Ausschluss einer Resistenz gegen Thrombozytenaggregationshemmung (ASS, Clopidogrel) bei der Prävention von Thromboembolien.

In dieser Studie war es von Bedeutung, die ausreichende Thrombozytenaktivität der teilnehmenden Probanden darzustellen. Eine Normalfunktion der Thrombozyten konnte in 76 % der Proben ermittelt werden. Es ist bekannt, dass die Funktion der Thrombozyten im peripheren Blut gesunder Patienten nicht immer diesen Richtwert erreicht, ohne dass dies klinische Folgen für den Patienten hat (Robier, C. et al., 2010, S. 126). Eine leichte Abweichung vom Richtwert (941–1.563 AU*min) kann somit als klinisch nicht relevant eingeschätzt werden. Der Normbereich der Thrombozytenfunktion gilt außerdem für die Funktion der Thrombozyten im peripheren Blut, nicht im PRP. Es wird ebenfalls häufig belegt, dass alle Antikoagulanzen die Thrombozyten aktivieren und eine vorzeitige Degranulation

auslösen können. EDTA und Heparin spielen dabei die größte Rolle. Nach heutigem Wissensstand ist Citrat das Antikoagulan der Wahl, um eine vorzeitige Aktivierung und damit eine verfrühte Ausschüttung der Wachstumsfaktoren zu vermeiden, da es den Thrombozyten ein hohes Maß an Membranstabilität bietet (Efeoglu, C. et al., 2004, S.1403-1407). Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Studie Citrat im Herstellungs- bzw. Zentrifugationsvorgang als Antikoagulan verwendet.

Ein weiterer möglicher Grund bei der Abweichung der Thrombozytenfunktion vom beschriebenen Normwert könnte eine mechanische Aktivierung durch den Kontakt mit Gefäßen, Pipettierspitzen oder anderen Gegenständen während des Herstellungsprozesses gewesen sein. Außerdem stellt der Zentrifugationsvorgang selbst ein hohes Maß an mechanischer Belastung dar. Grundsätzlich besteht diese Möglichkeit bei der Herstellung von PRP und muss in dieser Studie ebenfalls kritisch betrachtet werden.

Zu den vom Hersteller beschriebenen Einschränkungen der Testergebnisse gehört u. a. das Vorliegen von Erythrozyten im PRP. In diesen Fällen konnte eine Minderung der insgesamt erfolgten Aggregation beobachtet werden (Toth, O. et al., 2006, S.781).

Diese Aussage wurde durch diese Studie bestärkt, da sich im hergestellten PRP grundsätzlich eine geringe Menge an Erythrozyten befand. Erst eine vollautomatisierte und standardisierte Herstellung von PRP könnte eine erythrozytenfreie PRP-Probe ermöglichen und sollte zukünftig eines der Ziele bei der Entwicklung einer solchen Zentrifuge darstellen.

Grundsätzlich legt die Fachliteratur in Bezug auf PRP-Behandlungen großen Wert auf die Messung der Thrombozytenfunktion im Zusammenhang mit PRP, da nur durch eine physiologisch ablaufende Aggregation der Thrombozyten die WF freigesetzt werden können (Eppley, B. L. et al., 2006, S. 145; Castillo, T. N. et al., 2011, S. 266; Busch, C. et al., 1976, S. 493).

4.3.2 Herstellung und Anreicherung des PRP

In dieser Studie sollten die klinischen Grundlagen für die Herstellung einer vollautomatisierten Zentrifuge für die standardisierte Herstellung von PRP geschaffen werden. Ziel sollte es sein, Standardprogramme für die einzelnen Behandlungsindikationen, z. B. Hart- und Weichgewebsdefekte, zu entwickeln, um vorhersagbare Produkte zu erzielen.

In dieser Studie unterlag die Herstellung des PRP durch das nicht automatisierte Abpipettieren der einzelnen Blutbestandteile aus den CPDA-Röhrchen behandlerabhängigen Schwankungen.

Bei den an der Studie teilnehmenden Patienten wurde zu Beginn der Operation die aktuelle Anzahl der Thrombozyten im Vollblut gemessen und später mit der Thrombozytenzahl im Konzentrat verglichen. Hieraus ließ sich der Anreicherungsfaktor errechnen. Aufgrund der Bildung von Thrombozytenaggregaten im PRP konnte nur ein sicherer Mindestwert gemessen werden. Dass es sich dabei um einen gemessenen Mindestwert handelte, wurde durch ein „+“ nach der Thrombozytenanzahl dokumentiert. Diese Aggregate führten bei der absoluten Zählung der einzelnen Thrombozyten rechnerisch zu einer zu niedrigen Anreicherung, lassen aber eine Aussage über einen sicheren Mindestwert zu. Die Gefahr, durch Riesenthrombozyten einen falschen Mindestwert zu erreichen, ist dabei zu vernachlässigen.

Berücksichtigt werden müssen bei den vorliegenden Ergebnissen auch die oben beschriebenen analytischen Störeinflüsse bei der Thrombozytenausgangszahl, zu denen u. a. hämatologische Erkrankungen oder Thrombozytenfunktionsstörungen durch Bestrahlung der Patienten, gehören können.

Diese Störeinflüsse können mögliche Ursachen für Schwankungen bei den Ergebnissen darstellen.

In einer Pilotstudie wurden die Zentrifugationsparameter im Rahmen des Projektes „RotiSan-Wundheilungsförderung durch Thrombozytenkonzentrate“ des Lehrstuhls für Medizintechnik der Technischen Universität München in Garching und der Firma Hettich in Tuttlingen erarbeitet. Es war das Ziel, eine möglichst hohe Anreicherung von Thrombozyten im PRP zu erreichen. In den meisten veröffentlichten Studien wurden verschiedene Zentrifugationsparameter verwendet und 1–4 Zentrifugationsdurchgänge vorgenommen (Eppley, B.L. et al., 2006, S.147); (Ishida, K. et al., 2007, S.1103); (Kasten, P. et al., 2006, S.68); (Leitner, G.C. et al., 2006, S.135); (Lindeboom, J.A. et al., 2007, S.133); (Marx, R.E., 2004, S.489).

In der vorliegenden Studie wurde durch zwei Zentrifugationsdurchgänge eine durchschnittliche Thrombozytenzahl von $939+ (10^3/\mu\text{l})$ im peripheren Patientenblut erreicht, was einem durchschnittlichen Anreicherungsfaktor von 4,4 entspricht. Es ist anzunehmen, dass aufgrund der oben beschriebenen Bildung von Thrombozytenaggregaten die absolute Anzahl der im PRP vorhandenen

Thrombozyten größer ist als dokumentiert und damit auch die Ausschüttung an WF. Vergleichsweise wird in den meisten Veröffentlichungen ein Faktor von 3,5–10,5 für die Thrombozytenanreicherung angegeben (Eppley, B.L. et al., 2006, S.147); (Ishida, K. et al., 2007, S.1103); (Kasten, P. et al., 2006, S.68); (Leitner, G.C. et al., 2006, S.135); (Lindeboom, J.A. et al., 2007, S.133); (Marx, R.E., 2004, S.489).

In der Literatur zeigt sich, dass es für jede Indikation auch eine empfohlene Anreicherung gibt. So beschreiben Weibrich et al. eine zwei- bis dreifache Anreicherung für die Behandlung von PRP im Zusammenhang mit extraoralen Weichgewebsdefekten (Ulkusbehandlung) als sinnvoll. Anreicherungen von mehr als 5 scheinen die Wundheilung nicht positiv zu begünstigen, eher sogar negativ zu beeinflussen (Weibrich, G. et al., 2004, S.665).

Für Weichgewebsdefekte im Bereich der oralen Schleimhaut wird eine beschleunigte und gute Wundheilung bei einem Anreicherungsfaktor von 4–5 angegeben (Eppley, B.L. et al., 2004; , S.174). Die klinischen Ergebnisse dieser Studie geben Hinweis auf eine regelgerechte Ausschüttung der WF bei dem in dieser Studie erreichten Anreicherungsfaktor von 4,4.

In der vorliegenden Arbeit konnte außerdem keine Korrelation zwischen der Ausgangsthrombozytenzahl und der erreichten Anreicherung nachgewiesen werden (siehe Abb. 32). Es konnte somit gezeigt werden, dass ein hoher Ausgangswert an Thrombozyten nicht automatisch zu einer höheren Anreicherung führt.

Mit einem Anreicherungsfaktor von 4,4 befindet sich die hier vorliegende Studie etwas über diesem gewünschten Bereich, es kann aber trotzdem von einer optimalen Ausschüttung von WF und einer damit verbundene Optimierung des Wundheilungsverlaufs gesprochen werden.

4.3.3 Applikation des PRP

Es ist anzunehmen, dass die Applikation des PRP eine Rolle spielen kann. Dies lässt sich anhand von Beobachtungen belegen. Unregelmäßige Wundflächen und die Art der Applikation bzw. der Applikationsmenge können Einfluss auf das Ergebnis nehmen. Eine homogene Applikation wäre sinnvoll, um lokal eine zu hohe Konzentration zu vermeiden. Eine Möglichkeit könnte eine gelartige Trägersubstanz sein, die ähnlich wie bei dem bereits bekannten sog. „Fibrinkleber“ eine visköse Konsistenz haben und somit insbesondere auf großen, planen Flächen

besser verteilt werden könnten. Denkbar wären auch Verbandsmaterialien, die mit PRP getränkt auf die Wundfläche aufgelegt werden.

In dieser Studie wurde das PRP mit einer sterilen Kanüle in flüssiger Form gleichmäßig verteilt. Es konnten durch diese manuelle Applikation punktuelle „PRP-Anhäufungen“ nicht vermieden werden.

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von PRP auf die Wundheilung oberflächlicher Wunden (Spalthautentnahmestellen) untersucht. Dabei wurde aus patienteneigenem Vollblut durch einen mehrstufigen Zentrifugationsvorgang das sog. PRP gewonnen und dieses intraoperativ auf die Spalthautentnahmestellen aufgetragen.

Die Proben wurden jeweils in zwei Durchgängen mit folgenden Parametern zentrifugiert:

1. Zentrifugationsdurchgang: 1.750 g (RZB) für 6 Minuten;
2. Zentrifugationsdurchgang: 2.250 g (RZB) für 9 Minuten.

Die Zentrifugationsparameter wurden in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Medizintechnik der Technischen Universität München (Prof. Dr. Dr. Wintermantel) im Zuge einer vorklinischen Pilotstudie sowie mit der Firma Hettich (Andreas Hettich GmbH & Co KG, Tuttlingen) erarbeitet.

Das optimale Ergebnis einer geschlossenen Epitheldecke sollte bei PRP-Behandlung (17 Patienten) schneller und komplikationsärmer als in der Kontrollgruppe (13 Patienten) erreicht werden. Frühere Studien zeigen, dass die thrombozytären Wachstumsfaktoren einen positiven Effekt auf die Wundheilung bewirken, dabei scheint deren Anreicherung einen entscheidenden Einfluss zu haben. Mit TRAP-Test und hydrodynamischer Fokussierung wurde die Aktivierbarkeit der Thrombozyten nachgewiesen und die Thrombozytenanreicherung bestimmt. Die Aktivierbarkeit der im PRP befindlichen Thrombozyten ergab bei allen Proben ein positives Ergebnis und die durchschnittliche Thrombozytenanzahl lag bei 890+ (Konzentration [$10^3/\mu\text{l}$], der durchschnittliche Anreicherungsfaktor bei 4,4). Dokumentiert wurde der Wundheilungsprozess photographisch und mit Auswertungsbögen am 3., 7., 10. und 60. Tag postoperativ.

Schlussfolgerung:

Patienten, die mit PRP behandelt wurden, zeigten im Vergleich zur Kontrollgruppe:

- nach 60 Tagen postoperativ signifikant häufiger eine vollständig geschlossene Epitheldecke im Wundbereich;
- signifikant seltener Wundheilungsstörungen;
- ein verbessertes Ergebnis bezüglich der Narbencolorierung und Narbenstruktur.

Grundsätzlich kann festgestellt werden,

- dass die Aktivierbarkeit der im PRP befindlichen Thrombozyten bei allen Proben möglich war,
- dass 14 von 17 Patienten in der PRP-Gruppe (82 %) und 6 von 13 Patienten in der KG (46 %) eine Wunde mit vollständig geschlossener Epitheldecke aufwiesen.

Die mögliche Anwendung von PRP ist vielfältig und beschränkt sich in der bisherigen Fachliteratur auf die Behandlung chronischer, diabetischer Ulzera, Behandlungen in der maxillofazialen Chirurgie und in der Orthopädie. Die stimulierende Wirkung von PRP auf Fibroblasten, Endothelzellen, Osteo- und Chondroprogenitorzellen sowie mesenchymalen Stammzellen ist dabei mittlerweile unumstritten.

In dieser Studie konnte ein durchaus positives Fazit für die Behandlung von oberflächlichen, iatrogen und standardisiert gesetzten Weichgewebsdefekten mit PRP gezogen werden. Vor allem die ästhetisch verbesserten Ergebnisse bei den abgeheilten Spalthautentnahmestellen nach abgeschlossener Wundheilung und das signifikant verringerte Vorkommen von Wundheilungsstörungen während der Wundheilung sind hier hervorzuheben. Ob die erzielten Ergebnisse jedoch Aufwand und zusätzliche Kosten bei unkomplizierten, oberflächlichen Wunden wie Spalthautentnahmestellen rechtfertigen, sollte nochmals überdacht werden. Auch aus den in dieser Arbeit diskutierten Problemen bei der Versorgung von

Spalthautentnahmestellen findet im klinischen Alltag immer mehr Vollhaut anstatt Spalthaut als Deckung für diese Defekte Verwendung.

6 Literatur

1. Aghaloo, T.L., Moy, P.K., Freymiller, E.G. Evaluation of platelet-rich plasma in combination with anorganic bovine bone in the rabbit cranium: a pilot study. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.* 19(2004) 59-65
2. Aktas, G., Kayton, R. Ultrastructural immunolocalization of basic fibroblast growth factor in fibroblasts and extracellular matrix. *Histochem. Cell. Biol.* 113(2000) 227-233
3. Ali, I.H., Brazil, D.P. Bone Morphogenetic Proteins and their Antagonists: Current and Emerging Clinical Uses. *Br. J. Pharmacol.* 10(2014) 12-26
4. Altmeyer, P. Aufbau der Haut. In: "Enzyklopädie der Dermatologie, Venerologie, Allergologie, Umweltmedizin", Bacharach-Buhles, M., Springer-Verlag, 2010, 3. Auflage, 81-93
5. Andreassi, A., Bilenchi, R., Biagioli, M., D'Aniello, C. Classification and pathophysiology of skin grafts. *Clinics in dermatology.* 21(2009) 332-337
6. Anitua, E., Sanchez, M., Nurden, A.T., Nurden, P., Orive, G., Andia, I. New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. *Trends. Biotechnol.* 24(2006) 227-234
7. Baryza, M.J., Baryza, G.A. The Vancouver Scar Scale: an administration tool and its interrater reliability. *J. Burn. Care. Rehabil.* 16(1995) 535-538
8. Bauer, F., Benner, K.U., Henckmann, K.-H. Die ballonassistierte Sinusboden-Schleimhautrelevation - erste klinische Resultate. *Implant J3.* 2(2005) 62-65
9. Beier, J., Bittner, R., Hosten, N. Morphologic image processing operators: reduction of partial volume effects for improved 3D visualization of CT data. *Radiologie* 10(2007) 860-866
10. Belli, E., Govoni, F., Matteini, C., Migliano, E. Radial forearm free cutaneous flap. Evaluation of the level of damage to the donor site. *Minerva. Stomatol.* 48(1999) 63-69

11. Blank, I. Postoperative Wundheilungsstörungen und Komplikationen. In: "Wundforum", Hartmann-Verlag. 4(1997) 10-17
12. Boyapati, L., Wang, H.L. The role of platelet-rich plasma in sinus augmentation: a critical review. *Implant Dent.* 15(2006) 160-170
13. Busch, C., Wasteson, A., Westermark, B. Release of a cell growth promoting factor from human platelets. *Thromb. Res.* 8(1976) 493-500
14. Castillo, T.N., Pouliot, M., Hyeon, J., Jason, L.D. Comparison of growth factor and platelet concentration from commercial platelet-rich plasma separation systems. *Am. J. Sports Med.* 39(2011) 266-271
15. Caliot, J., Bodin, F., Chiriac, S. Split-thickness skin graft donor site: Wich dressing use? *Ann Chir Plast Esthet.* 14(2014) 47-52
16. Chick, L.R. Brief history and biology of skin grafting. *Annals of plastic surgery.* 21(1988)358-365
17. Creaney, L., Hamilton, B. Growth factor delivery methods in the management of sports injuries: the state of play. *Br. J. Sports Med.* 42(2008) 314-320
18. Crowther, J.R. Elisa: theory and practice. In: "Methods in Molecular Biology", Humana Press Inc., New Jersey, 1995, 42. Volume, 325-333
19. Efeoglu, C., Akcay, A.D., Ertürk, S. A modified method for preparing platelet-rich plasma: an experimental study. *J. oral maxillofac. Surg.* 62(2004) 1403-1407
20. Ehrenfeld, M. Grundlagen der zahnärztlichen chirurgischen Diagnostik und Therapie. In: "Zahnärztliche Chirurgie", Schwenzler, N., Thieme-Verlag, 2006, 4. Auflage, 206-212
21. Eppley, B.L., Pietrzak, W.S., Blanton, M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plast. Reconstr. Surg.* 118(2006) 147-159
22. Eppley, B.L., Woodell, J.E., Higgins, J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast. Reconstr. Surg.* 114(2004) 1502-1508

23. Everts, P.A., Knape, J.T.A., Weibrich, G., Schönberger, J., Hoffmann, J., Overdeest, E.P., Box, H., van Zundert, A. Platelet-rich plasma and platelet gel: a review. *J. Extra Corpor. Technol.* 38(2006) 174-187
24. Falanga, V., Schachner, L.A., Rae, V., Ceballos, P.I., Gonzalez, A., Liang, G., Blanks, R. Dermatologic consultations in the hospital setting. *Arch. Dermatol.* 130(1994) 1022-1025
25. Frei, R., Blosca, F.E., Handl, M., Trc, T. The role of growth factors in the human organism and their use in medicine, especially in orthopedics and traumatology. *Acta. Chir. Orthop. Traumatol. Cech.* 75(2008) 247-252
26. Fürst, G. Sinus Grafting with autogenous platelet-rich-plasma and bovine hydroxyapatite, histomorphometric study in minipigs. *Plast. Reconstr. Surg.* 64(2003) 852-861
27. Garofalo, G.S. Autogenous, allogenic and xenogenic grafts for maxillary sinus elevation: literature review, current status and prospects. *Minerva. Stomatol.* 56(2007) 373-392
28. Holzle, F., Wolff, K.D., Mohr, C. Reconstructive oral and maxillofacial surgery. *Dtsch. Arztebl. Int.* 105(2008) 815-822
29. <http://www.umm.uni-heidelberg.de/inst/ikc/gerinnungskaskade.html>. Stand: 16.6.2013
30. http://www.physioderm.de/images/reddiXL/seiten_de/36_2.jpg. Stand: 13.6.2012
31. <http://www.wundkompodium.de/cms/hauschichten.html>. Stand: 16.8.2011
32. <http://www.wundkompodium.de/cms/hauschichten.html><https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Gesundheit.html>. Stand: 2.2.2003
33. Hunt, T.K. and La Van, F.B. Enhancement of wound healing by growth factors. *N. Engl. J. Med.* 321(1989) 111-112
34. IARC. Weight Control and Physical Activity. In: " Handbooks of Cancer Prevention", Oxford-University Press, 2002, 6. Auflage, 63-78
35. Ishida, K., Kuroda, R., Masahiko, M., Tabata, Y., Hokugo, A., Kawamoto, T., Sasaki, K., Doita, M., Kurosaka, M. The regenerative effects of platelet-rich plasma on

- meniscal cells in vitro and it`s in vivo application with biodegradable gelatin hydrogel. *Tissue Eng.* 13(2007) 1103-1112
36. Johnsson, A., Heldin, C.H., Wasteson, A., Westermark, B., Dehel, T.G., Huang, J.S., Seeburg, P.H., Gray, A., Ullrich, G. The c-sis gene encodes a precursor of the B chain of platelet-derived growth factor. *EMBO J.* 3(1984) 921-928
37. Jones, V., Grey, J.E., Harding, K.G. Wound Dressing. *British Medical Journal* 332(2006) 777-780
38. Kamoi, K., Iino, M., Ishiguro, H. Regeneration therapy for oral disease. *Hum. Cell.* 19(2006) 76-82
39. Kasten, P., Vogel, J., Luginbühl, R., Niemayer, P., Weiss, S., Schneider, S., Kramer, M., Leo, A., Richter, W. Influence of platelet-rich plasma on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and ectopic bone formation in calcium phosphate ceramics. *Cells Tissues Organs.* 183(2006) 68-79
40. Kremer, M., Berger, A. Perspektiven des künstlichen Hautersatzes: vom biologischen Verband zur künstlichen Haut. *Dtsch Arztebl.* 97 (2000) 1222-1227
41. Knapp, K., Hansis, M.L. Spezielle Wundbehandlung. In: "Die Wunde: Pathophysiologie und Behandlung", Knapp, K., Hansis, M., Thieme-Verlag, 1999, 178
42. Knox, R.L., Hunt, A.R., Collins, J.C., Desmet, M., Barmes, S. Platelet-rich plasma combined with skin substitute for chronic wound healing: a case report. *J. Extra Corpor. Technol.* 38(2006) 260-264
43. Krasna, M., Domanovic, D., Tomsic, U., Svaiger, U., Jeras, M. Platelet gel stimulates proliferation of human dermal fibroblasts in vitro. *Acta. Dermatovenerol. Alp. Panonica. Adriat.* 16(2007) 105-110
44. La Vecchia, C., Tavani, A., Franceschi, S., Levi, F., Corrano, G., Negri, E. Epidemiology and prevention of oral cancer. *Oral Oncol.* 33(1997) 302-312
45. Lamey, P.J., Douglas, P.S., and Napier, S.S. Secretor status and oral cancer. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* 32(1994) 214-217

46. Lee, C.Y., David, T., Nishime, M. Use of platelet-rich plasma in the management of oral bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a report of 2 cases. *J. Oral Implantol.* 33(2007) 371-382
47. Lee, H.W., Reddy, M.S., Geurs, N., Palcanis, K.G., Lemons, J.E., Rahemturra, E.G., Ho, K.J., Chen, D.T., Davis, C.R., Feldman, D.S. Efficacy of platelet-rich plasma on wound healing in rabbits. *J. Periodontol.* 79(2008) 691-696
48. Leitner, G.C., Gruber, R., Neumüller, J., Wagner, A., Kloimstein, P., Höcker, P., Körmöczi, G.F., Buchata, C. Platelet content and growth factor release in platelet-rich plasma: a comparison of four different systems. *Vox. Sang.* 91(2006) 135-139
49. Lindeboom, J.A., Mathura, K.R., Aartman, I.H.A., Kroon, F.H.M., Milstein, D.M.J., Ince, C. Influence of the application of platelet-enriched plasma in oral mucosal wound healing. *Clin. Oral. Implants. Res.* 18(2007) 133-139
50. Lippert, H. Wachstumsfaktoren. In: "Wundatlas", Schulz J.T. H., Thieme Verlag, 2002, 3. Auflage 163-166
51. Llewelyn, D.R. UK National Clinical Guidelines in Paediatric Dentistry. The pulp treatment of the primary dentition. *Int. J. Paediatr. Dent.* 10(2000) 248-252
52. Locker, D., Slade, G. Association between clinical and subjective indicators of oral health status in an older adult population. *Gerodontology.* 11(1994) 108-114
53. Lockhart, R., Menard, P., Crout, P., Bertrand, J. Infrahyoid myocutaneous flap in reconstructive maxillofacial cancer and trauma surgery. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 27(1998) 40-44
54. Majumdar, S., Gonder, D., Poncz, M. Characterization of the human beta-thromboglobulin gene. Comparison with the gene for platelet factor 4. *J. Biol. Chem.* 266(1991) 5785-5789
55. Marx, R.E. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 62(2004) 489-496

56. Marx, R.E., Carlson, E.R., Eichstaedt, R.M., Schimmele, S.R., Strauss, J.E., Georgeff, K.R. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 85(1998) 638-646
57. Pacifici, L., Casella, F., and Maggiore, C. Platelet rich plasma (PRP): potentialities and techniques of extraction. *Minerva. Stomatol.* 51(2002) 341-350
58. Pierce, G., M.T., Altrock B. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *J. Cell Biochem.* 45(1991) 332-351
59. Pietramaggiore, G., Scherer, S.S., Mathews, J.S., Alperovich, M., Yang, H.J., Neuwalder, J., Czeczugla, J.M., Chan, R.K., Wagner, C.T., Orgill, D.P. Healing modulation induced by freeze-dried platelet-rich plasma and micronized allogenic dermis in a diabetic wound model. *Wound Repair Regen.* 16(2008) 218-225
60. Pietrzak, W.S., Eppley, B.L. Platelet rich plasma: biology and new technology. *J. Craniofac. Surg.* 16(2005) 1043-1054
61. Plachokova, A.S., Nikolidakis, D., Mulder, J., Jansen, J.A., Crengers, N.H. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in dentistry: a systematic review. *Clin. Oral Implants Res.* 19(2008) 539-545
62. Proudfoot, A.E., Power, C.A., Hoogewerf, A., Montjovent, M.O., Borlat, F., Wells, T.N. Characterisation of the RANTES/MIP-1 alpha receptor (CC CKR-1) stably transfected in HEK 293 cells and the recombinant ligands. *FEBS Lett.* 376(1995) 19-23
63. Robier, C., Neubauer, M., Sternad, H. Evaluation of platelet function and pharmacological platelet inhibition in patients with myeloproliferative disorder using multiple electrode aggregometry. *Thromb Res.* 3(2010) 126-128
64. Roukis, T.S., Baker, J.R., Tiernan, B. Spontaneous bilateral ankle and midfoot sepsis in a nonimmunocompromised patient. *J Am Podiatr Med Assoc.* 96(2006) 139-147
65. Roukis, T.S., Zgonis, T., Tiernan, B. Autologous platelet-rich plasma for wound and osseous healing: a review of the literature and commercially available products. *Adv. Ther.* 23(2006) 218-237

66. Rozman, P., Bolta, Z. Use of platelet growth factors in treating wounds and soft-tissue injuries. *Acta. Dermatovenerol. Alp. Panonica. Adriat.* 16(2007) 156-165
67. Saarialho-Kere, U.K., Wallgren, J., Väänänen, A., Teronem, O., Sorsa, T., Pirilä, E., Hietanem, J., Maisi, P., Tjähdehame, L., Salo, T. Interstitial collagenase is expressed by keratinocytes that are actively involved in reepithelialization in blistering skin disease. *J. Invest. Dermatol.* 104(1995) 982-988
68. Sammartino, G., Marenzi, T.M., di Lauro, A.E., D'Agostino, E., Claudio, P.P. Use of autologous platelet-rich plasma (PRP) in periodontal defect treatment after extraction of impacted mandibular third molars. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 63(2005) 766-770
69. Schulte, W. Centrifuged autogenous blood for the filling of large bone defects- modification of the autogenous blood method. *Dtsch. Zahnarztl. Z.* 24(1969) 854-857
70. Sedlarik, K.M. *Wundheilung.* Gustav-Fischer-Verlag, 1993, 2.Auflage, S.8
71. Singer, A.J., Clark, R.A. Cutaneous wound healing. *N. Engl. J. Med.* 341(1999) 738-746
72. Soffer, E., Ouhayoun, J.P., Anagnostou, F. Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 95(2003) 521-528
73. Takabayashi, Y., Ishihara, M., Sumi, Y. Platelet-rich-plasma-containing fragmin-protamine micro-nanoparticles promote epithelialization and angiogenesis in split-thickness skin graft donor sites. *J. Surg. Res.* 1(2015) 83-91
74. Thompson, W.D., Harvey, J.A., Kazmi, M.A., Stout, A.J. Fibrinolysis and angiogenesis in wound healing. *J. Pathol.* 165(1991) 311-318
75. Toth, O., Calatzis, A., Penz, S., Losoncy, H., Siess, W. Multiple electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood. *Thromb. Haemost.* 96(2006) 781-788
76. Tozum, T.F., Demiralp, B. Platelet-rich plasma: a promising innovation in dentistry. *J. Can. Dent. Assoc.* 69(2003) 664-671

77. Trabuco, J.R., Martins, S.A., Prazeres, D.M. Use of ImageJ to Recover Information from individual cells in a G Protein-Coupled Receptor Assay. *Method Mol Biol.* 1(2015) 143-172
78. Trombelli, L., Farina, R. Clinical outcomes with bioactive agents alone or in combination with grafting or guided tissue regeneration. *J. Clin. Periodontol.* 35(2008) 117-135
79. Veillette, C.J. Growth factors- BMPs, DBMs, and buffy coat products: are there any proven differences amongst them? *International Journal of the care of the injured.* (2007) 38-48
80. Weibrich, G., Hansen, T., Kleis, W., Buch, R., Hitzler, W.E. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone.* 34(2004) 665-671
81. Weibrich, G., Kleis, W.K., Hafner, G. Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by 2 different methods: curasan-type PRP kit versus PCCS PRP system. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 17(2002) 184-190
82. Whitman, D.H., Berry, R.L., Green, D.M. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 55(1997) 1294-1299
83. Wrassner, G. Anatomie und Physiologie der Haut. In: "Dermatologie- Lehrbuch und Atlas", Urban Fischer Verlag, 2005, 9. Auflage, 514-524
84. Wrotniak, M., Bielecki, T., Gazdzik, T.S. Current opinion about using the platelet-rich gel in orthopaedics and trauma surgery. *Ortop. Traumatol. Rehabil.* 9(2007) 227-238
85. Wu, C.C., Chew, K.Y., Chen C.C. Antimicrobial-impregnated dressing combined with negative-pressure wound therapy increases split-thickness skin graft engraftment: a simple effective technique. *Adv Skin Wound Care* 1(2015) 21-27

7 Anhang

7.1 Patientenaufklärungsbogen



Klinik für MKG-Chirurgie | Klinikum rechts der Isar | 81675 München

Patienteninformation zur Studie

„Test von körpereigenen Wachstumsfaktoren zur Verbesserung der Wundheilung an Transplantatentnahmestellen“

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

Ihre Operation steht bevor.
Wir möchten Sie gerne über den Inhalt unserer klinischen Studie informieren.

Ziel der Studie:

In der Abteilung für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie finden täglich viele chirurgische Eingriffe statt. Die überwiegende Mehrzahl heilt komplikations- und folgenlos ab. Leider kommt es aus noch nicht ganz geklärten Umständen in Einzelfällen zu einer Störung der Wundheilung. Dies kann einerseits zu einem zweiten Eingriff oder aber zu ästhetisch ungenügenden Ergebnissen führen. Ziel der derzeitigen Forschung ist es zum einen die Ursachen der Wundheilungsstörungen zu erforschen und zum anderen vorbeugende Maßnahmen zu entwickeln. In der vorliegenden Studie sollen körpereigene Wachstumsfaktoren aus einer geringen Menge Ihres Blutes gewonnen werden. Diese körpereigenen Wachstumsfaktoren befinden sich in speziellen Blutzellen, den sog. Blutplättchen. Diese sollen in einem speziellen Verfahren von den übrigen Blutzellen isoliert und auf die Wundfläche aufgebracht werden. In regelmäßigen Abständen wird dann die Wunde beobachtet und der Fortschritt der Heilung dokumentiert. Ziel der Studie ist es, das autologe Thrombozytenkonzentrat - aus Eigenblut gewonnen - als Wundaufgabe mit der herkömmlichen Technik (Abklebung durch Pflaster/Wundfolien) zu vergleichen und zur Rekonstruktion von Spalthautentnahme- und Transplantatentnahme-defekten zu etablieren. Unsere Studie wird randomisiert durchgeführt. Welches Verfahren bei Ihnen zur Anwendung kommt, wird per Losverfahren bestimmt. Voraussetzung zur Teilnahme an der Studie ist Ihr geschätztes Einverständnis.

Ihre Teilnahme an der Studie ist **freiwillig** und kann von Ihnen jederzeit widerrufen werden. Sämtliche Daten, die aus dieser Studie gewonnen werden, werden anonymisiert und ausschließlich für wissenschaftliche Zwecke (Publikationen, Vorträge und Präsentationen) verwendet. Sie können jederzeit ohne Angaben von Gründen die Teilnahme an der Studie beenden. Es entstehen keinerlei Nachteile für Sie.

Klinikum rechts der Isar
Anstalt des öffentlichen Rechts
Klinik und Poliklinik für Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie
Direktor:
Univ.-Prof. Dr. Dr. K.-D. Wolff
Ismaninger Straße 22
81675 München
www.mkg.med.tu-muenchen.de
Tel: (089) 41 40 - 2910
Fax: (089) 41 40 - 4844

Sprechstunden:
Poliklinik Mo-Fr. 8:30 – 12:00 Uhr
Tel. 4140-2929
Privatsprechstunde n. Vereinbarung
Tel. 4140-2921
Spezialprechstunden:
Frakturachsorge
Kieferfehlstellungen (Dysgnathien)
Kiefergelenkerkrankungen
Kraniofaziale Fehlbildungen
Lippen-Kiefer-Gaumenspalten
Plast. Rekonstr. Gesichtschirurgie
Tumorchsorge
Zahnärztliche Implantologie

Vorstand:
Univ.-Prof. Dr. Rainer Gradinger
(Ärztlicher Direktor, Vorsitzender)
Dr. Philipp Ostwald
(Kaufmännischer Direktor)
Anette Thoke-Colberg
(Pflegedirektorin)
Univ.-Prof. Dr. M. Schwalger
(Dekan)

Bankverbindung:
Bayer Landesbank | Girozentrale
Kto-Nr. 20 272
BLZ 700 500 00

Abb.34: Patientenaufklärungsbogen Seite 1

Im Folgenden wird der genaue Ablauf vorgestellt:

1. Es wird Ihnen während der Operation etwa 30 ml Blut aus der Vene abgenommen.
2. Ein kleiner Teil Ihres Blutes wird an unser Labor gesandt. In diesem Blut wird die genaue Anzahl von Blutplättchen ermittelt.
3. Der Rest Ihres Blutes wird in einer Zentrifuge aufbereitet. Dadurch lassen sich die Blutplättchen aus Ihrem Blut isolieren. Dies geschieht im Operationssaal direkt neben Ihnen, sodass eine Verwechslung des Blutes ausgeschlossen werden kann.
4. Die Blutplättchen werden dann auf die Wunde steril aufgebracht und im Anschluss wird ein Verband über die Wunde gelegt.
5. In regelmäßigen Anständen wird auf Station der Verband abgenommen und die Wunde begutachtet sowie dokumentiert (Foto).

Mögliche Risiken bei einer Teilnahme an der Studie bestehen nicht, da ausschließlich Ihre körpereigenen Substanzen verwendet werden und diese nur oberflächlich aufgetragen werden.

Ergeben sich für Sie Vorteile wenn Sie an der Studie teilnehmen?

Durch Ihre Teilnahme an der Untersuchung können sich für Sie die Vorteile ergeben, die aufgrund der neuen Rekonstruktionstechnik oben bereits skizziert wurden. Im Wesentlichen könnten dies reduzierte Verbandwechsel und eine schnellere Wundheilung sein. Ferner können die bei Ihnen erhobenen Daten beitragen diese Technik in der Zukunft im Bereich der wiederherstellenden Chirurgie zu etablieren.

Für Fragen stehen wir Ihnen jederzeit zu Verfügung.



Einwilligung zur Teilnahme an der Studie

„Test von körpereigenen Wachstumsfaktoren zur Verbesserung der Wundheilung an Transplantatentnahmestellen“

Mit meiner Unterschrift bestätige ich, dass mich _____ umfassend über die Studie, deren Verlauf, mögliche Risiken und Bedingungen aufgeklärt hat. Ich bestätige, dass ich ausreichend Zeit und Möglichkeit hatte, nachzufragen und detaillierte Erklärungen einzuholen. Ich stimme außerdem zu, dass alle gewonnenen Daten nur anonymisiert zu wissenschaftlichen Zwecken wie für Publikationen, Vorträge und Präsentationen verwendet werden dürfen.

Mir ist bekannt, dass mir bei Ablehnung der Teilnahme an der Studie keinerlei Nachteile in der Behandlung entstehen und ich auch zu einem späteren Zeitpunkt mein Teilnahme jederzeit widerrufen kann, ohne dass mir daraus weder diagnostische oder therapeutische Nachteile noch zusätzliche Kosten für meine weitere medizinische Betreuung entstehen.

Ich bin damit Einverstanden, dass die o.g. Technik während der anstehenden Operation durchgeführt wird.
Ich verzichte auf eine eventuelle wirtschaftliche Nutzung wissenschaftlicher Ergebnisse.
Von der Patienteninformation habe ich ein Exemplar erhalten.

Ich gebe freiwillig mein Einverständnis, an dieser Studie teilzunehmen.

Datenschutzpassus

Die gewonnenen Daten werden streng vertraulich und anonymisiert behandelt. Sie dienen ausschließlich wissenschaftlichen Zwecken. Eine Weitergabe an Dritte erfolgt nicht.

Klinikum rechts der Isar Anstalt des öffentlichen Rechts

Klinik und Poliklinik für Mund-Kiefer-
Gesichtschirurgie
Direktor:

Univ.-Prof. Dr. Dr. K.-D. Wolff

Ismaninger Straße 22

81675 München

www.mkg.med.tu-muenchen.de

Tel: (089) 41 40 - 2910

Fax: (089) 41 40 - 4844

Sprechstunden:

Poliklinik Mo-Fr. 8:30 – 12:00 Uhr

Tel. 4140-2929

Privatsprechstunde n. Vereinbarung

Tel. 4140-2921

Spezialprechstunden:

Frakturachsorge

Kieferfehlstellungen (Dysgnathien)

Kiefergelenkerkrankungen

Kraniofaziale Fehlbildungen

Lippen-Kiefer-Gaumenspalten

Plast. Rekonstr. Gesichtschirurgie

Tumornachsorge

Zahnärztliche Implantologie

Ort, Datum, Unterschrift Patient

Ort, Datum, Unterschrift Arzt

Abb.36: Patientenaufklärungsbogen Seite3

7.2 Exemplarische Dokumentation der Spalthautentnahmestellen in der Kontrollgruppe

Patient 7

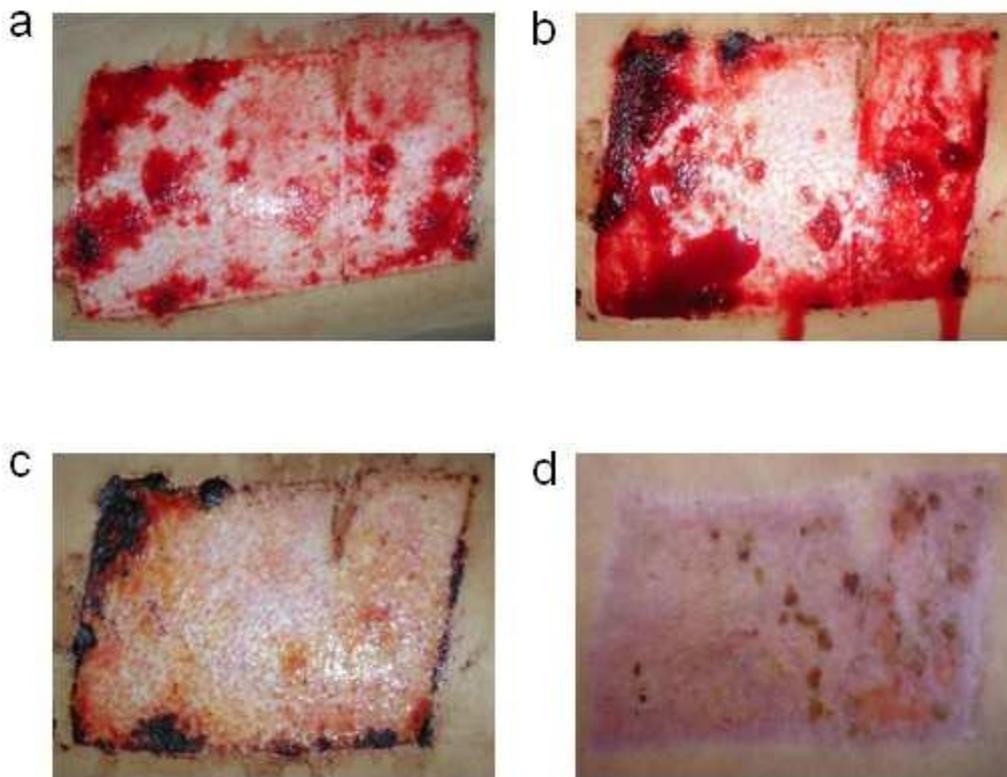


Abb.37: Spalthautentnahmestellen ohne PRP; a=3. Tag postoperativ, b=7. Tag postoperativ, c=10. Tag postoperativ, d=60. Tag postoperativ

Die Wundfläche zeigt initial (Abbildung 37a, 37b) eine hypoämische Tendenz und ist am linken oberen Randbereich etwas mit Schorf belegt.

Am 7. Tag postoperativ lässt sich eine Blutung auf der Wundoberfläche erkennen, die vor allem in peripheren Bereichen lokalisiert ist. Am 10. Tag postoperativ kann keine Blutung der Wundfläche festgestellt werden und es lassen sich einzelne Fibrininseln beobachten, die aber auch auf Sekretbildung und nekrotisierte Areale hindeuten können. Am rechten, oberen Wundrand befindet sich ein Epithelstreifen, der in die Wunde hineinragt. (Abbildung 37a). Am Tag 60 postoperativ ist eine Wundheilungsstörung sichtbar. Vorwiegend im rechten Wundflächenbereich angesiedelt, können zahlreiche, rundliche, offene und teilweise mit

Granulationsgewebe bedeckte Areale beobachtet werden, die nicht regelgerecht verheilt sind. Die Wundoberfläche zeigt ein lila-livide Colorierung und ist nur im Bereich des belassenen Epithelstreifens regelgerecht epithelialisiert. Beobachtet werden kann ebenfalls eine vertikale Schrumpfung, die im medianen Bereich der untersuchten Oberfläche am stärksten ausfällt (Abb. 37d).

Patient 4

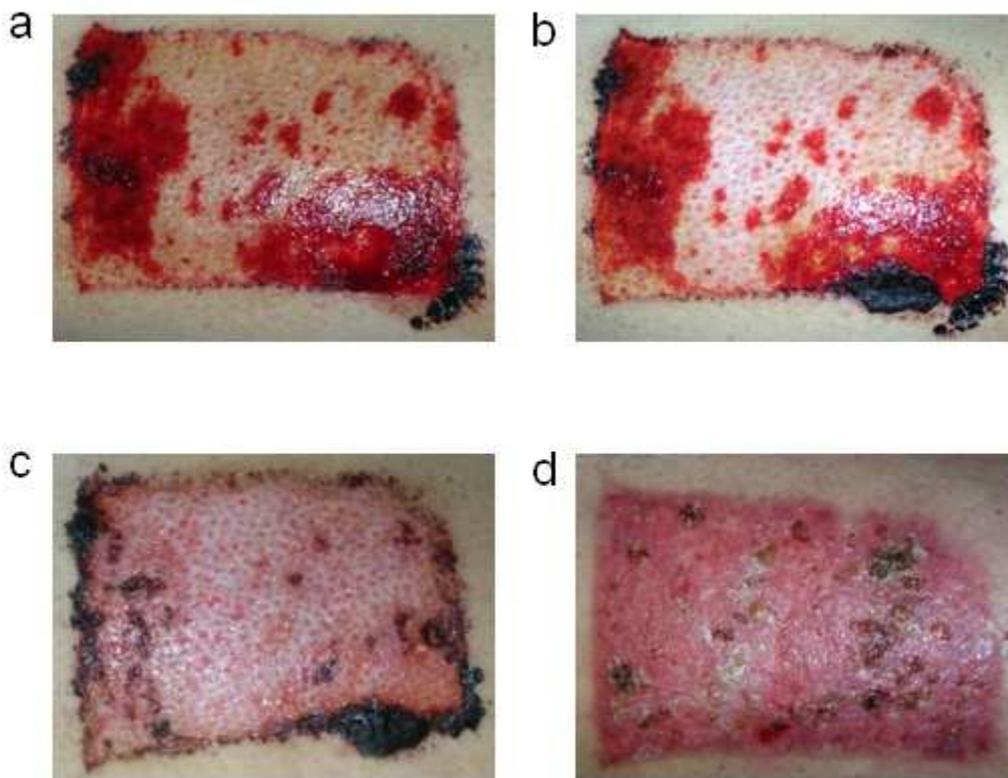


Abb.38: Spalthautentnahmestellen ohne PRP; a=3. Tag postoperativ, b=7. Tag postoperativ, c=10. Tag postoperativ, d=60. Tag postoperativ

Abb. 38a zeigt Wundränder mit hyperämischen Charakter, die im Verlauf der Heilung abnehmen. Man kann an den Rändern die Bildung von Schorf und kleine, runde, gleichmäßig auf der Wunde verteilte Epithelinseln beobachten. Auf den Abb. 38a, 38b, 38c scheint die Wunde reizlos, auf Abb. 38d postoperativ lässt sich jedoch eine starke Wundheilungsstörung erkennen. Diese äußert sich durch abnorme Rötung und kreisförmige mit Schorf und Granulationsgewebe bedeckte, offene Wundflächen. Nekrotisierte Areale sind erkennbar. Es liegt keine signifikante Schrumpfung der Wundfläche vor.

Patient 10

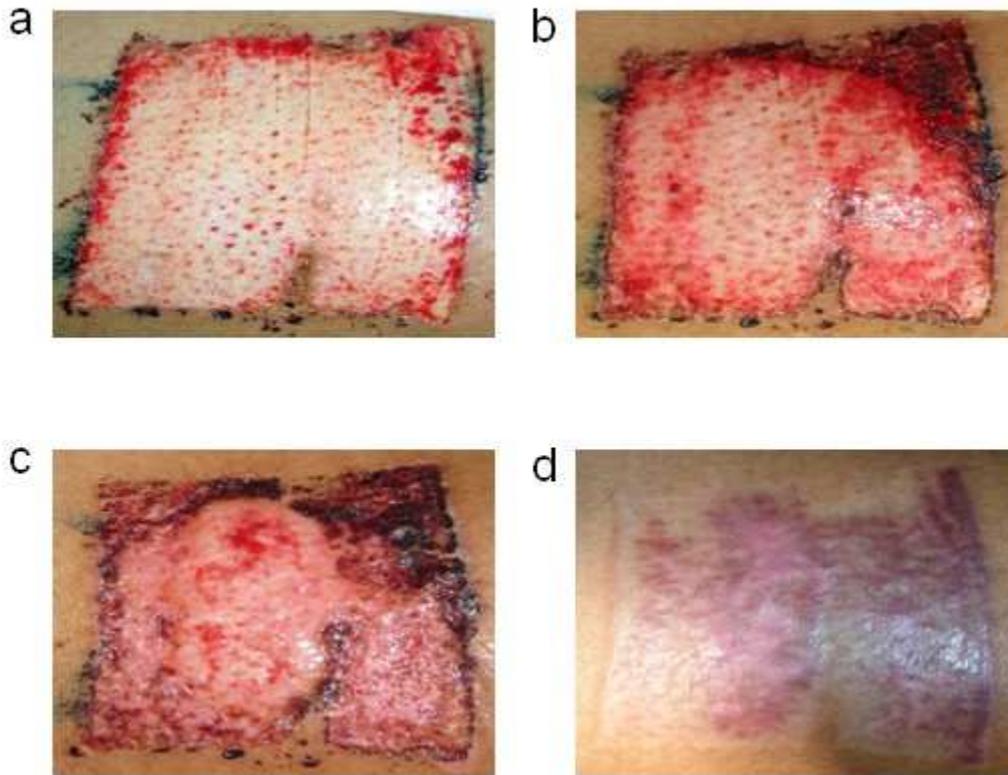


Abb. 39: Spalthautentnahmestellen ohne PRP; a= 3.Tag postoperativ, b= 7.Tag postoperativ, c= 10.Tag postoperativ, d=60. Tag postoperativ

Die Wundtextur ist anfänglich (Abb. 39a) hypoämisch und geht im Verlauf der Heilung in eine abnorme Rötung der Wundfläche über, die am 10. Tag postoperativ als Indiz für eine Wundheilungsstörung angesehen werden kann. Es zeigt sich dabei eine trockene, rötliche und hyperplastische Wundoberfläche mit nekrotischen Anteilen am rechten unteren Wundflächenrand. Am unteren mittigen Wundrand ist ein belassener Epithelstreifen und am oberen Wundrand sind belassene Epithelinseln sichtbar. Diese Bereiche bleiben bei abgeschlossener Wundheilung als gut epithelialisierte und kaum vernarbte Bereiche erkennbar (Abb. 39c, 39d).

7.3 Exemplarische Dokumentation der Spalthautentnahmestelle unter Behandlung mit PRP

Patient 1

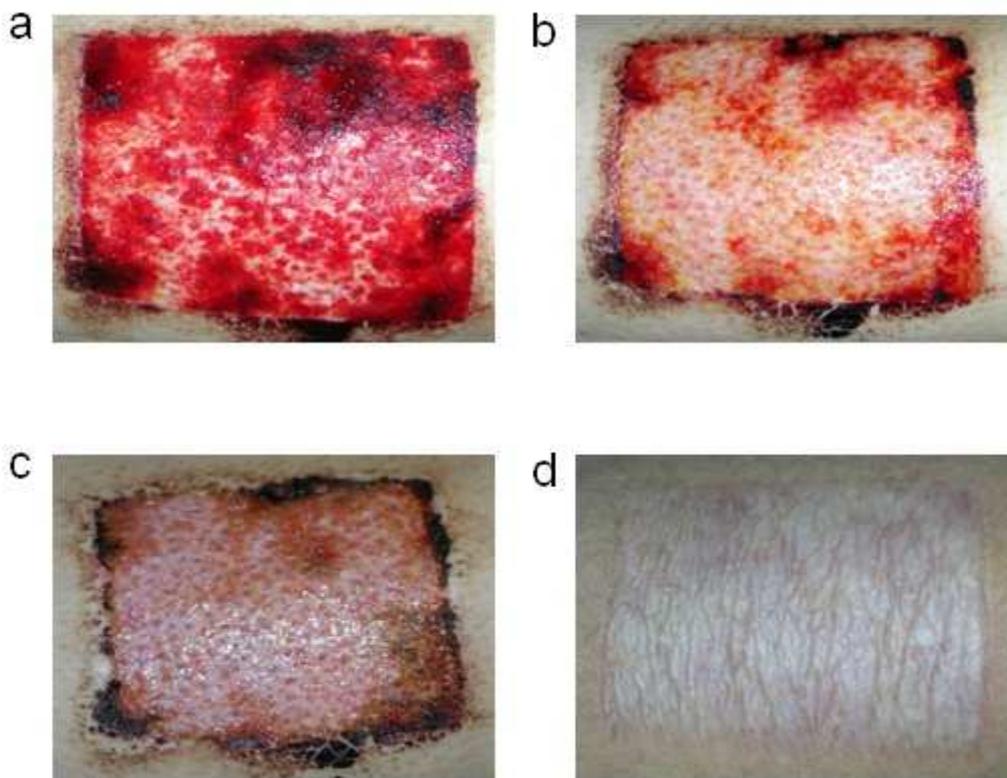


Abb. 40: Spalthautentnahmestellen mit PRP; a= 3.Tag postoperativ, b= 7.Tag postoperativ, c= 10.Tag postoperativ, d=60.Tag postoperativ

Die Wundoberfläche zeigt am 3. Tag postoperativ eine hyperämische und partiell mit Schorf bedeckte Struktur (Abb. 40a). Diese bekommt im Verlauf der Wundheilung eine hypoämische Oberflächentextur. Granulationsgewebe und Schorf befinden sich hauptsächlich direkt am Wundrand. Die Epithelinseln sind auf Abb. 40a, 40b, 40c deutlich und gleichmäßig auf der Wundfläche erkennbar. Am 7. und 10. Tag postoperativ scheint die Wundoberfläche mit Schorf, Granulationsgewebe und Fibrin bedeckt zu sein. Am 60. Tag postoperativ hingegen zeigt sich die Spalthautentnahmestelle gleichmäßig, unauffällig und homogen, ohne hyperplastische Narbenbildung und ohne erkennbare Schrumpfung abgeheilt. Die Narbe zeichnet sich durch eine unauffällige und gewöhnliche Pigmentierung aus (Abb. 40d).

Patient 8

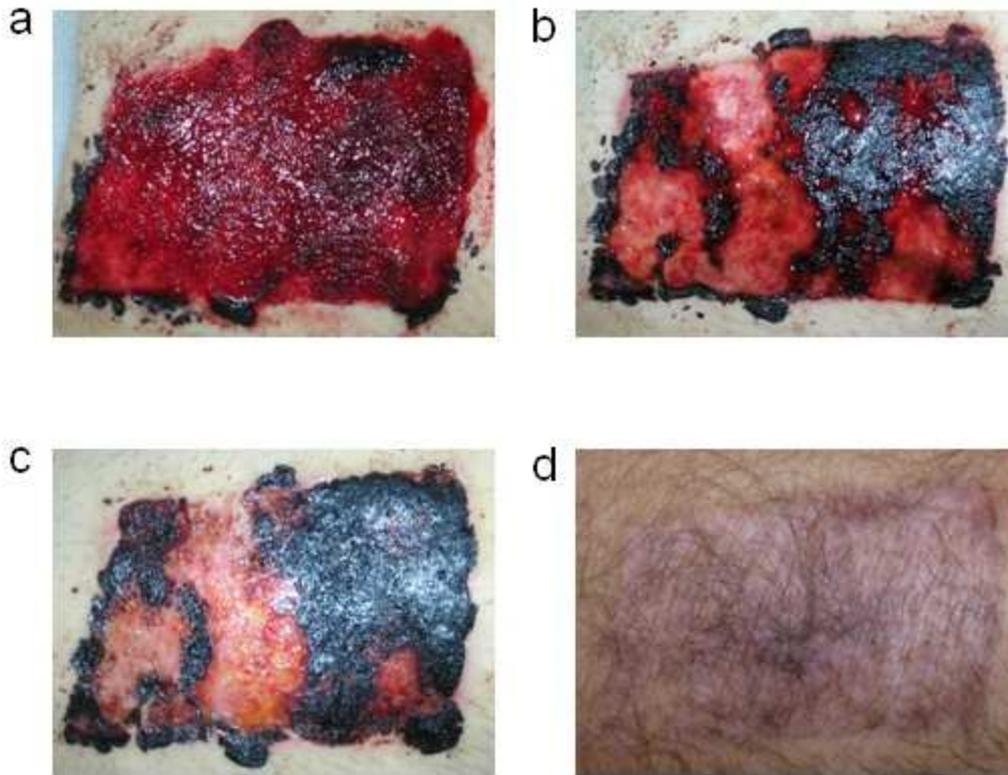


Abb.41: Spalthautentnahmestellen mit PRP; a=3. Tag postoperativ, b=7. Tag postoperativ, c=10. Tag postoperativ, d=60. Tag postoperativ

Die Wundtextur ist hyperämisch und großflächig mit Schorf belegt. Es lässt sich eine Schicht aus Blut- und Wundbestandteilen vermuten (Abb. 41a, 41b, 41c). Am 10. Tag postoperativ kommen zu den genannten Bestandteilen auch kleine nekrotische Wundareale hinzu. Die im Verlauf der Wundheilung erfolgende Epithelialisierung ist gut zu erkennen.

Am 60. Tag postoperativ ist die Wundfläche vollständig und größtenteils homogen mit Narbengewebe geschlossen. Eine Schrumpfung der Wundoberfläche in vertikaler Richtung ist tendenziell vorhanden.

Patient 13

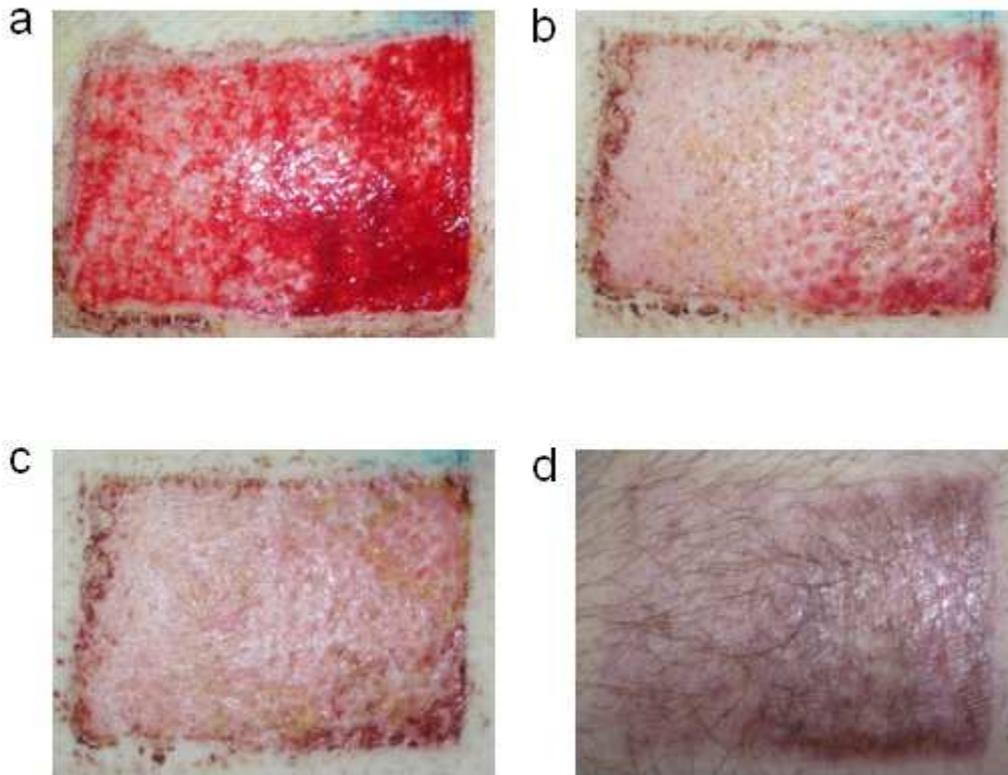


Abb.42: Spalthautentnahmestellen mit PRP; a=3. Tag postoperativ, b=7. Tag postoperativ, c=10. Tag postoperativ, d=60. Tag postoperativ

Die Oberflächenstruktur ist auf Abb. 42a mit einer dünnen Schicht aus Blutbestandteilen bedeckt. Schorf- und Granulationsgewebe sind lediglich an den Wundrändern gering ausgeprägt. Epithelinseln sind auf der gesamten Wundfläche vorhanden. Die Wundheilung verläuft unauffällig und gut (Abb. 42a, 42b, 42c).

Am 60. Tag postoperativ ist die gesamte Wundfläche homogen mit Narbengewebe geschlossen. Durch die dunklere Pigmentierung lässt sich im rechten Wundflächenbereich eine geringfügig hyperplastische Narbenbildung vermuten, die mit einem entsprechend größeren Anteil an Granulationsgewebe auf Abb. 42a, 42b und 42c einhergeht. Die linke Seite zeigt jedoch eine regelgerechte und normale Pigmentierung und Narbenbildung (Abb. 42d).

8 Lebenslauf

Persönliches:

Name	Caroline Gerlach
Geburtsdatum	01.08.1984
Geburtsort	Friedrichshafen
Familienstand	ledig

Studium:

Studium der Zahnheilkunde an der Ludwig-Maximilians-Universität München:

Vorklinischer Studienabschnitt	2005 - 2007
Naturwissenschaftliche zahnärztliche Vorprüfung	22.03.2007
Zahnärztliche Vorprüfung	06.03.2008
Klinischer Studienabschnitt	2007 - 2011
Zahnärztliche Prüfung	26.01.2011

Schule:

Welfengymnasium, Ravensburg	1995 - 2004
Weststadt Grundschule, Ravensburg	1991 - 1995

Berufsausbildung:

Anstellung als Vorbereitungsassistentin der Zahnmedizin in der Praxis Dr. Hausmann in Unterschleißheim	10.2011 - 02.2012
--	-------------------

Anstellung als Vorbereitungsassistentin der Zahnmedizin in der Praxis Dr. Annette Jasper in München	02.2012 – 12.2014
---	-------------------

Berufsausübung:

Anstellung als Zahnärztin

in der Praxis am Tor

Dres. Limbach, Rountree & Jäger

seit 01.2015